

Mauricio Laerte Silva

**AVALIAÇÃO CARDIOVASCULAR  
SUBCLÍNICA, METABÓLICA E NUTRICIONAL DE CRIANÇAS  
E ADOLESCENTES COM DOENÇA CELÍACA EM  
TRATAMENTO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Ciências Médicas da Universidade Federal de  
Santa Catarina, para obtenção do grau de Doutor  
em Ciências Médicas.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Marlene de  
SouzaPires

FLORIANÓPOLIS  
2015

**MAURÍCIO LAERTE SILVA**  
**"AVALIAÇÃO CARDIOVASCULAR SUBCLÍNICA METABÓLICA  
E NUTRICIONAL DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM  
DOENÇA CELÍACA"**

Esta tese foi submetida ao processo de avaliação pela Banca Examinadora para obtenção do título de:

**DOUTOR EM CIÊNCIAS MÉDICAS**

E aprovada em 25 de fevereiro de 2015, atendendo as normas da legislação vigente da Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Área de Concentração: **Investigação Clínica**.



Prof.ª, Dra. Tânia Silveira Fróde

Coordenadora do Programa

Banca Examinadora:




Prof.ª, Dr.ª Maria Marlene de Souza Pires

Presidente/Orientador



Prof.ª, Dr.ª Patrícia Mayllins Mouta Barrios

Membro



Prof. Dr. Francisco Romo Neto

Membro



Prof.ª, Dr.ª Mônica Lisboa Ching Wayhs

Membro



Prof. Dr. Adair Roberto Soares dos Santos

Membro



Prof. Dr. Edilson Flávio Morato

Membro



Prof.ª, Dr.ª Sílvia Modesto Nassar

Membro

Florianópolis, 2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Silva, Mauricio Laerte  
Avaliação cardiovascular subclínica, metabólica e  
nutricional de crianças e adolescentes com doença celíaca em  
tratamento / Mauricio Laerte Silva ; orientador, Maria  
Marlene de Souza Pires - Florianópolis, SC, 2015.

151 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-  
Graduação em Ciências Médicas.

Inclui referências

1. Ciências Médicas. 2. Doença celíaca. 3. Aterosclerose.
4. Espessura médio-intimal da artéria carótida comum  
direita. 5. Citocinas. I. Pires, Maria Marlene de Souza.
- II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-  
Graduação em Ciências Médicas. III. Título.



\

Dedico este trabalho à minha esposa Liliane, aos meus filhos Maria Emília e Mauricio, ao meu genro Luciano e à minha nora Isadora, agradecendo pelo incondicional apoio e compreensão! Às vezes não entendendo porque tanto tempo em frente ao computador, subtraindo tempo do convívio familiar, para digitar, digitar, digitar...

E à minha linda e querida neta Helena, perguntando: "ele" ainda está trabalhando?...desejando estivesse compartilhando suas brincadeiras.





## AGRADECIMENTOS

A meus pais, Raul (*in memoriam*) e Iracema, por todos os esforços que empreenderam para minha formação pessoal e profissional.

À professora Maria Marlene de Souza Pires, amiga e orientadora, com quem convivo há décadas, com frutíferos laços científicos que uniram coração e nutrição, estabelecendo uma linha de pesquisa que culmina, com esta tese, inédita e desafiadora. Agradeço imensamente pela concepção da pesquisa, pela oportunidade, pelo suporte, pela dedicação e pelo estímulo constante, não me deixando esmorecer em nenhum momento.

Aos colegas do Serviço de Nutrologia, em especial à Dra. Mônica Chang Wayhs, pela colaboração e encaminhamento dos participantes com Doença Celíaca para o estudo.

À Dra. Paola Bridi, pelo auxílio na avaliação nutricional dos participantes.

Às colegas do Serviço de Cardiologia do HIJG, que auxiliaram na realização das coletas: Marilza, incansável e determinada, e Elizabete, sempre acolhedora e disponível.

Aos funcionários do laboratório do HIJG, que auxiliaram na coleta e processamento das amostras sanguíneas, especialmente à Maria de Souza, pela amizade, carinho com os participantes, comprometimento, disposição e organização.

À Direção do Hospital Universitário, em especial ao seu Diretor, Prof. Dr. Carlos Alberto Justo da Silva, pela fundamental contribuição na aquisição dos *kits* de citocinas, utilizadas neste estudo.

Às crianças e adolescentes, e seus pais e responsáveis, que aceitaram participar do estudo, contribuindo sobremaneira para mais um passo na investigação científica desta doença.



Adote o ritmo da natureza.  
O segredo dela é a paciência.”  
(Ralph Waldo Emerson)





## RESUMO

A doença celíaca (DC) é uma condição crônica, a qual perdura por toda a vida. O impacto da dieta isenta de glúten em aspectos nutricionais e em outros parâmetros bioquímicos e subclínicos têm sido sistematicamente investigado, mas novos estudos ainda são necessários. Os objetivos deste estudo foram avaliar características cardiovasculares subclínicas, metabólicas e nutricionais em crianças e adolescentes portadores de DC em tratamento ambulatorial, por meio de aspectos demográficos, laboratoriais, ultrassonográficos e ecocardiográficos, bem como verificar associações destas variáveis de um grupo com DC com um grupo semelhante mas saudável.

Realizou-se um estudo observacional, transversal e prospectivo, com amostras pareadas por sexo, idade e estado nutricional, de 30 participantes com DC e 30 controles saudáveis. Foram avaliados lipídios, hematócrito, hemoglobina, anticorpo anti-gliadina IgA, proteína C reativa de alta sensibilidade e as citocinas IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, interferon gama e fator de necrose tumoral alfa. Foram medidas a espessura médio-intimal da carótida comum direita por meio de ultrassom, e as dimensões das cavidades esquerdas e as funções do ventrículo esquerdo por ecocardiografia. Para a análise estatística utilizou-se o Teste-t e testes exploratórios de análise multivariada, com nível de significância alfa de 0,05 quando aplicável.

Verificou-se níveis do colesterol total e do LDL-colesterol mais altos no grupo DC ( $p_{\text{valor}}=0,0268$  e  $0,0253$  respectivamente) e do HDL-c abaixo do normal em ambos os grupos; a espessura médio-intimal da carótida comum direita aumentada com maior frequência no grupo DC ( $p_{\text{valor}}=0,0049$ ); não houve disfunções ventriculares em ambos os grupos. Concluiu-se, então que crianças e adolescentes com DC, em dieta isenta de glúten por pelo menos um ano, quando comparados com um grupo saudável, semelhante em termos de sexo, idade e estado nutricional, apresentam dislipidemia, fator de risco cardiovascular, e a EMIC aumentada, indicativo de aterosclerose subclínica. Mostram também marcadores pró e anti-inflamatórios com um padrão que sugere que, mesmo sem glúten, o organismo parece manter estes mecanismos incipientemente ativos.

**Palavras-chave:** Doença celíaca. Doenças cardiovasculares. Artéria carótida primitiva. Aterosclerose. Inflamação. Citocinas. Pediatria.



## ABSTRACT

Celiac disease (CD) is a chronic condition, which lasts for a lifetime. The impact of a gluten-free diet on nutritional and other biochemical and subclinical parameters and have been systematically investigated, but further studies are still needed.

The objectives of this study were to evaluate subclinical cardiovascular, nutritional and metabolic characteristics in children and adolescents with CD in outpatient treatment, by demographics, laboratory, ultrasound and echocardiography, and to verify associations of these variables of a group of DC with a similar healthy group.

We conducted an observational, cross-sectional and prospective study, with samples paired by sex, age and nutritional status with 30 participants with CD and 30 controls. Serum lipids, hematocrit, hemoglobin, IgA anti-gliadin antibody, high sensitive C-reactive protein, serum interleukins IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, gamma interferon and alpha tumor necrosis factor. We measured the intima-media thickness of the common carotid through high resolution digital linear ultrasound, and the dimensions of the left cavities and left ventricular functions by echocardiography. For statistical analysis we used the t-test and exploratory multivariate analysis testing, with alpha significance level of 0.05 when applicable.

There was total cholesterol and LDL-cholesterol levels higher in CD group ( $p_{\text{value}} = 0.0268$  and  $0.0253$  respectively) and HDL-cholesterol below normal levels in both groups; the media-intima thickness of the right common carotid artery (cMIT) was more frequently increased in those with CD ( $p_{\text{value}} = 0.0049$ ); and lack of ventricular dysfunction in both groups.

It was concluded then that children and adolescents with CD on a gluten-free diet for at least one year, compared with a healthy group, similar in terms of gender, age and nutritional status, have dyslipidemia, a cardiovascular risk factor, and increased, cMIT indicative of subclinical atherosclerosis. They also have pro- and anti-inflammatory markers with a pattern that suggests that even without gluten, the body seems to keep assets and incipients these mechanisms.

**Keywords:** Celiac disease. Cardiovascular diseases. Carotid artery. Atherosclerosis. Inflammation. Cytokines. Pediatrics.



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Causas da exclusão para a composição das amostras iniciais.....	39
Tabela 2- Medidas descritivas das variáveis não laboratoriais e o $p_{\text{valor}}$ para o Teste-t.....	55
Tabela 3- Medidas descritivas das variáveis boratorias e o $p_{\text{valor}}$ para o Teste-t.....	56
Tabela 4- Classificação das variáveis e o $p_{\text{valor}}$ para o Teste-t....	57-58
Tabela 5- Análise Discriminante com as interleucinas de ambos os grupos, com seus valores brutos.....	62
Tabela 6- Classificação das funções da análise discriminante com as interleucinas, para os grupos Controle e DC.....	63





## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ilustração dos traçados ecocardiográficos dos fluxos das velocidades E e A da valva mitral, e exemplo de mensuração das velocidades (A=manual, B=semi-automática).....	42
Figura 2 - Ilustração dos traçados ecocardiográficos dos fluxos simultâneos das vias de entrada e de saída do VE , com exemplo da mensuração do TTive (= TTve-TEve), utilizado para o cálculo do TeiVE.....	43
Figura 3 - Ilustração do traçado ecocardiográfico das ondas da movimentação miocárdica ao nível do anel mitral lateral, obtidas pelo Doppler pulsado tecidual, e exemplo de mensuração manual da velocidade da onda e'.....	44
Figura 4 -Ilustração das ondas do fluxo mitral e da movimentação miocárdica (A= velocidade de pico da EVM pelo Doppler pulsado espectral e B=velocidade da e'VM pelo Doppler pulsado tecidual), e exemplo da mensuração manual das respectivas velocidades.....	45
Figura 5 -Ilustração do traçado do ecocardiograma modo-M e exemplo de mensuração das medidas do DdVE (A) e do DsVE (B).....	46
Figura 6 – Ilustração do traçado do ecocardiograma modo-M e exemplo de mensuração do diâmetro do AE.....	47
Figura 7 - Imagens do US da carótida comum direita, com exemplos de mensuração da EMIC (A= manual e B= semi-automática).....	48
Figura 8 - Análise fatorial para as interleucinas de ambos os grupos.....	59
Figura 9 - Análise fatorial para as interleucinas do grupo DC.....	60
Figura 10 - Análise fatorial para as interleucinas do grupo Controle.....	61
Figura 11- ACM com as variáveis categorizadas grupo (suplementar) sexo, idade, escore z do IMC, espessura médio-intimal da carótida direita, colesterol total, HDL-colesterol, não-HDL colesterol, LDL-colesterol, triglicérideos, diâmetro diastólico do VE, diâmetro do AE e índice Tei do VE.....	64

## **LISTA DE FIGURAS (conclusão)**

Figura 12- ACM com as variáveis categorizadas grupo (suplementar), EMIC, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, com exclusão das categorias diâmetro diastólico do VE, diâmetro do AE, índice de Tei do VE, IMC, sexo, idade, triglicerídeos e não-HDL colesterol.....	65
---	----

## **QUADRO**

Quadro 1- Qualificação das variáveis.....	52-53
---	-------



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS, EM ORDEM ALFABÉTICA CRESCENTE:

%-Por cento ou percentual  
ACELBRA-SC- Associação dos Celíacos do Brasil-Santa Catarina  
ACM- Análise de Correspondência Múltipla  
AD- Análise Discriminante  
AIDS- Acquired Immunodeficiency Syndrome  
AE- Diâmetro do Átrio esquerdo  
AFCP- Análise Fatorial com Componentes Principais  
AVM- Onda A da valva mitral pelo Doppler pulsado espectral  
CCB- Centro de Ciências Biológicas  
CCD- Carótida comum direita  
CF- Departamento de Ciências Fisiológicas  
cm/s- Centímetros por segundo  
CT- Colesterol total  
DATASUS- Base de dados de informações em saúde do Sistema Único de Saúde do Ministério da Saúde  
DC- Doença celíaca  
DdVE- Diâmetro diastólico do VE  
Dieta isenta de glúten  
Diabetes Mellitus tipo 1  
DsVE- Diâmetro sistólico do VE  
e'VM- Onda e' da valva mitral pelo Doppler pulsado tecidual  
ELISA- Ensaio imunoenzimático  
EMIC- Espessura médio-intimal da carótida direita  
ESPGHAN- *European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*(Sociedade Européia de Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátricas)  
EVM- Onda E da valva mitral pelo Doppler pulsado espectral  
FencVE- Fração de encurtamento sistólico do VE, ou Delta D do VE  
g/Dl- Gramas por decilitro  
Hb- Hemoglobina  
HDL-c- *High Density Lipoprotein cholesterol* (colesterol lipoproteína de alta densidade) colesterol  
HIJG- Hospital Infantil Joana de Gusmão  
Vírus da imunodeficiência humana  
HLA- Human Leukocyte Antigen (antígeno leucocitário humano)  
Grupo DQ<sub>2</sub> de sorotipo do Human Leukocyte Antigen (antígeno leucocitário humano)

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS, EM ORDEM  
ALFABÉTICA CRESCENTE (continuação):**

HLA-DQ8:- Grupo DQ8 de sorotipo do antígeno leucocitário humano  
Ht- Hematócrito  
IgA- Imunoglobulina A  
IgG- Imunoglobulina G  
IL- Interleucina  
ILs- Interleucinas  
Interleucina 10  
IL-17- Interleucina 17  
IL-1ra- Interleucina 1ra  
IL-1 $\beta$ - Interleucina 1 beta  
IL-4 - Interleucina 4  
IL-6- Interleucina 6  
Índice de Massa Corporal  
*IFN- $\gamma$ - Interferon gamma* (interferon gama)  
LDL-c- *Low Density Lipoprotein cholesterol* (colesterol lipoproteína de baixa densidade)  
Linfócitos CD<sub>4</sub><sup>+</sup>- Linfócito T auxiliar do tipo CD<sub>4</sub><sup>+</sup>  
LANDI- Laboratório de Neurobiologia da Dor e Inflamação  
mg/dL- Miligramas por decilitro  
MHZ- Megahertz  
mm- Milímetros  
Não HDL-c- Colesterol não-HDL  
NCEP-*National Cholesterol Education Program* (Programa Nacional de Educação sobre Colesterol)  
PCR-as- Proteína C reativa de alta sensibilidade  
PDAY- *Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth*(Determinantes Biopatológicos de Aterosclerose em Jovens)  
pg/ml- Picogramas por mililitro  
Relação E/e'VM-Relação da onda E com a onda e' da valva mitral  
SBC- Sociedade Brasileira de Cardiologia  
SES-SC- Secretaria de Estado da Saúde de Santa Catarina  
TCIve- Tempo de Contração Isovolumétrica do VE  
TCLE- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido  
TeiVEÍndice de Tei do VE  
TEveTempo de ejeção do VE  
TG- Triglicerídeos

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS, EM ORDEM  
ALFABÉTICA CRESCENTE (conclusão):**

Th1- Linfócito *T helper* tipo 1

TNF- $\alpha$ - *Tumor Necrosis Factor* alpha (Fator de necrose tumoral alfa)

TRive- Tempo de Relaxamento Isovolumétrico do VE

TTive- Tempo total isovolumétrico do VE

TT- Tempo total entre o final da onda A e o início da onda E  
subsequente do fluxo mitral pelo Doppler pulsadoespectral

UFSC- Universidade Federal de Santa Catarina

UI/ml- Unidades internacionais por mililitro

US- Ultrassom

VE- Ventrículo esquerdo

VLDL-c-*Very Low-Density Lipoprotein cholesterol* (colesterol  
lipoproteína de muito baixa densidade)





## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	27
1.1 Justificativa	34
1.2 Hipótese da pesquisa	34
<b>2 OBJETIVOS</b>	34
<b>2.1 Objetivo geral</b>	34
<b>2.2 Objetivos específicos</b>	35
<b>3 MÉTODO</b>	37
3.1 Participantes-grupo DC	37
3.2 Critérios de exclusão – grupo DC	37
3.3 Participantes – grupo Controle	38
3.4 Critérios de exclusão – grupo Controle	38
3.5 Procedimentos	39
3.6 Variáveis	39
3.7 Estudo ecocardiográfico com Doppler pulsado espectral: transdutor setorial de 3,5 a 5 MHZ de frequência	42
3.8 Estudo ecocardiográfico com Doppler pulsado tecidual: transdutor setorial de 3,5 a 5 MHZ de frequência	44
3.9 Estudo ecocardiográfico com o modo-M: transdutor setorial de 3,5 a 5 MHZ de frequência	45
3.10 Estudo ultrassonográfico da carótida direita: transdutor linear de 10 MHZ de frequência	47
3.11 Definições, categorizações e valores de referência das variáveis	48
3.12 Análise estatística	51
3.13 Critérios éticos	54
<b>4 RESULTADOS</b>	55
<b>5 DISCUSSÃO</b>	67
<b>6 CONCLUSÕES</b>	77
6.1 Resposta à hipótese da pesquisa	77
<b>7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO</b>	79
<b>8 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	81
<b>REFERÊNCIAS</b>	83
<b>APÊNDICES</b>	95

## SUMÁRIO (conclusão)

Apêndice A- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para as crianças e adolescentes com doença celíaca.....	95
Apêndice B- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para as crianças e adolescentes do grupo Controle.....	97
Apêndice C- Termo de Assentimento informado para o grupo com doença celíaca.....	100
Apêndice D- Termo de Assentimento informado para o grupo Controle.....	103
Apêndice E – Protocolo de pesquisa.....	106
Apêndice F- Figura 13 - ACM com exclusão da variável AE...	109
Apêndice G- Figura 14 - ACM com exclusão das variáveis AE e VE.....	110
Apêndice H- Figura 15-ACM com exclusão das variáveis AE, VE e Tei.....	111
Apêndice I – Figura 16 - ACM com exclusão das variáveis AE, VE, Tei e IMC.....	112
Apêndice J-Figura 17- ACM com exclusão das variáveis AE, VE, Tei, IMC e ID.....	113
Apêndice K – Figura 18- ACM com exclusão das variáveis AE, VE, Tei e IMC, ID e SEXO.....	114
Apêndice L – Figura 19 - ACM com exclusão das variáveis AE, VE, Tei e IMC, ID, SEXO e triglicerídeos.....	115
ANEXOS	115
Anexo A - Termo consubstanciado de aprovação do projeto de pesquisa do CEP-HIJG.....	116
Anexo B - Artigo publicado no “Jornal de Pediatria(RioJ).....	123
Anexo C - Artigo submetido ao “Journal of the American Society of Echocardiography”.....	128

## 1 INTRODUÇÃO

A Doença Celíaca (DC) é uma enteropatia imunomediada, caracterizada por intolerância permanente ao glúten, cuja prevalência populacional é em torno de 1%. Na faixa etária pediátrica de 2,5 a 15 anos a prevalência atinge aproximadamente 1:300 a 1:80 crianças. Hoje em dia acredita-se que a prevalência da DC é de 1 a 1,5 % na população mundial, havendo um provável aumento da mesma entre os caucasianos e no sexo feminino. Há ainda, uma maior prevalência entre parentes de primeiro grau com DC, sugerindo uma suscetibilidade genética. Quanto mais próximos os familiares, maior é a prevalência: 70% em gêmeos monozigóticos, 10% em parentes de primeiro grau e 2,5% naqueles de segundo grau.<sup>1</sup>

Já está esclarecida a relação dessa enfermidade com os genes HLA (DQ<sub>2</sub> e DQ<sub>8</sub>). A DC é associada com o HLA-DQ<sub>2</sub> em 90 a 95% e com o HLA-DQ<sub>8</sub> em 5 a 10% dos casos. As populações que não têm DQ<sub>2</sub>, como os chineses e os japoneses, por exemplo, só apresentam DC os indivíduos com DQ<sub>8</sub>. Contudo, a molécula DQ<sub>2</sub> é comum na população em geral, de forma que apenas uma pequena proporção virá a desenvolver DC. Pensa-se que este fenômeno ocorre por desregulação da resposta imunitária, eventualmente relacionada com outros mecanismos genéticos subjacentes, citocinas ou agentes infecciosos, ainda não esclarecidos. Além disso, há uma contribuição dos genes não-HLA presentes no cromossomo 19 e no cromossomo 6.<sup>2,3,4,5,6</sup>

Um estudo original realizado por Sabrá e colaboradores em 1999, em pacientes com DC, chamou pela primeira vez a atenção para a elevação das citocinas IFN- $\gamma$  e IL-2, em concentrações até dez vezes maiores do que os valores encontrados nos controles, demonstrando desta forma que a doença celíaca tem mediação pela via Th1. Em um estudo com 32 pacientes com DC com e sem deficiência seletiva de IgA, confirmou-se os achados de Sabrá e colaboradores referente à participação da via de resposta imunológica dependente das células Th1 na DC, além de acrescentar a existência de associação entre a DC e a deficiência de IgA, somando-se o aumento da concentração de TNF- $\alpha$  e de IL-10.<sup>7</sup>

As citocinas circulantes, originárias de doenças inflamatórias do trato gastrointestinal, podem desencadear manifestações extra-intestinais como osteoporose<sup>8</sup> e anemia<sup>9</sup> ou contribuir potencialmente para o desenvolvimento de linfoma.<sup>10</sup> Este padrão, se sistemático, pode ser um elo entre as complicações ou refletir os efeitos de uma DIG.<sup>11,12,13,14</sup>

Em um estudo de Björck et al<sup>11</sup>, foi demonstrado que tanto a concentração de IFN- $\gamma$  quanto de IL-12, dependentes de células Th1, estão elevadas em crianças menores (em torno de 3 anos de vida) com a doença celíaca em relação aos controles. Isto confirma estudos anteriores com detecção de altas concentrações de IFN- $\gamma$  tanto localmente na mucosa intestinal<sup>15</sup> como no soro de crianças com doença celíaca.<sup>16</sup> Assim, doença celíaca em pré-escolares parece ter uma resposta típica dependente da concentração sérica de IFN- $\gamma$ . Por outro lado, os níveis elevados de IL-12, considerada uma indutora de IFN- $\gamma$  na inflamação intestinal<sup>17</sup>, não foram associadas com a doença celíaca em outros estudos, embora tenham sido estudados apenas em células originadas de biópsias intestinais.<sup>18,19</sup>

Diversos estudos sobre a doença celíaca clínica revelaram alterações nos níveis de citocinas após o início de uma DIG<sup>20,21,22,23</sup> em relação ao momento do diagnóstico, mas também que algumas citocinas detectadas no soro continuam elevadas quando comparadas com controles após 1 ano de tratamento.<sup>22</sup>

A citocina anti-inflamatória IL-10, conhecida como importante imunomodulador do trato intestinal<sup>24</sup> em estudos anteriores em pacientes com doença celíaca, foi encontrada aumentada<sup>24,25,26</sup> ou inalterada quando comparada ao controle.<sup>27,28</sup> Com estas respostas diferenciadas no que concerne às citocinas, e na dificuldade técnica de se dosá-las simultaneamente na mucosa intestinal e no sangue periférico, prevalece a importância da avaliação de suas concentrações sanguíneas em estudos que pretendam conhecer ou aprofundar informações sobre seu relevante papel local, ou sistêmico, mesmo quando em DIG, ou em pacientes assintomáticos.<sup>11</sup>

No Brasil, pesquisas recentes indicam uma prevalência da DC entre 1:214 a 1:681 pessoas, não especificamente crianças ou adolescentes. Em parentes de primeiro-grau a prevalência chegou a 4,8% em estudo transversal realizado em Brasília. Estima-se que sua prevalência seja ainda maior devido à grande variabilidade de sua apresentação clínica. A etiologia é considerada multifatorial, envolvendo fatores genéticos e ambientais.<sup>29</sup>

Geralmente a confirmação do diagnóstico de DC é tardio, devido às dificuldades e complexidade encontradas para sua realização. Existem alguns marcadores sorológicos relacionados com a doença, entre eles: anticorpo anti-gliadina IgA e IgG, anticorpo anti-endomísio IgA e anticorpo anti-transglutaminase IgA e IgG. Em indivíduos com idade acima de 2 anos de vida os anticorpos anti-

transglutaminase IgA e IgG, devem ser os de escolha para o diagnóstico, e quando menor que 2 anos, além destes, associar o Peptídeo de Gliadina Desaminada IgA e IgG. O diagnóstico deverá ser confirmado por meio da biópsia de segunda porção de duodeno, com as seguintes alterações histopatológicas: aumento do número de linfócitos intra-epiteliais, hiperplasia das criptas e achatamento das vilosidades (critérios da ESPGHAN e outras recomendações).<sup>30,31,32,33,34,35,36</sup>

A dieta isenta de glúten adotada no tratamento da DC está associada a erros alimentares que levam ao desbalanceamento da dieta, com aumento no consumo de gorduras e diminuição no consumo de fibras e fontes de cálcio.<sup>32</sup> Este consumo aumentado de gorduras está relacionado com aumento nos níveis séricos de colesterol total (CT) e LDL-colesterol (LDL) na população geral. No entanto, estudos em adultos com DC mostram níveis mais baixos de CT e LDL do que nos controles. Estudo realizado na Itália demonstrou a diminuição do CT e do HDL-colesterol (HDL) e aumento dos triglicerídeos (TG) em crianças com DC sem tratamento quando comparadas ao grupo sem DC. Após instituição de dieta isenta em glúten evoluíram com aumento do HDL e diminuição do CT e do LDL-c. Contudo, nenhuma pesquisa avaliou a qualidade da dieta destas crianças tanto quantitativa como qualitativamente, tampouco a frequência de atividade física.<sup>37,38</sup>

Dieta rica em gorduras e aumento da massa gorda são fatores de risco para doença aterosclerótica. A mortalidade em adultos com DC é maior do que a da população geral e especificamente a mortalidade por doença cardiovascular chega a aumentar em 60% neste grupo de doentes, conforme detectado em alguns estudos.<sup>39</sup>

As recomendações na prevenção de doença ateroscleróticas na infância e adolescência restringem a quantidade de gordura a partir do segundo ano de vida e não existem recomendações específicas para crianças e adolescentes com DC em tratamento. Sabendo que a doença aterosclerótica inicia na infância é importante conhecer quais alterações ocorrem na criança ou adolescente com DC e a existência de alterações no estado nutricional e em marcadores subclínicos de doença aterosclerótica.<sup>40</sup>

As doenças do aparelho circulatório representam hoje a principal causa de mortalidade no Brasil, sendo responsáveis por 30,9% do total de óbitos ocorridos em 2011 (DATASUS)<sup>41</sup>. Os determinantes sociais, como a industrialização, a urbanização e as mudanças de hábitos de vida, contribuíram para essa elevada taxa de mortalidade. As

morbidades do aparelho circulatório também representam elevado custo social ao País.

Nas últimas décadas, vários estudos têm demonstrado a interação complexa entre os diferentes fatores envolvidos na formação, progressão e ruptura das lesões ateroscleróticas, concordando-se que a aterosclerose é uma doença "imuno-inflamatória".<sup>42</sup>

A doença celíaca (DC) é uma doença auto-imune precipitada pela ingestão de glúten (gliadina), a principal proteína do trigo, em pessoas geneticamente predispostas, causada por uma resposta imunitária patológica da mucosa do intestino delgado superior, a esta substância.<sup>43</sup>

Curiosamente, esta doença é frequentemente associada com outras doenças auto-imunes, como Diabetes Mellitus tipo I, tireoidite de Hashimoto, vitiligo, lúpus eritematoso sistêmico e artrite reumatóide.<sup>44</sup> Um estudo recente evidenciou um elo genético comum entre a DC e o DM1,<sup>45</sup> o que sugere que os mesmos mecanismos biológicos, danos teciduais e intolerância relacionadas com autoimunidade a antígenos alimentares, podem estar envolvidas na patogênese de ambas as doenças. Por estar associado, tem sido sugerido rastrear doentes com DM1 para DC.<sup>46</sup>

Devido à patogênese anti-inflamatória e imunológica comuns em ambas as doenças, pode-se esperar também um aumento do risco cardiovascular em doentes com DC, pelo potencial risco aterogênico envolvido em sua evolução.<sup>42</sup>

As doenças cardiovasculares requerem medidas preventivas na infância e na adolescência, com controle dos principais fatores de risco, que incluem as dislipidemias. Em estudos realizados em Bogalusa, uma comunidade birracial localizada no Estado de Louisiana, Estados Unidos, foi verificada uma associação entre os fatores de risco para doenças cardiovasculares (determinados previamente) e as lesões ateroscleróticas encontradas nas necrópsias realizadas em crianças, adolescentes e adultos jovens que foram vítimas fatais de causas violentas como acidentes, assassinatos e suicídios.<sup>20</sup> Nesses estudos, as concentrações plasmáticas elevadas de TG, CT, lipoproteínas de baixa densidade, ou LDL-c e lipoproteínas de muito baixa densidade, ou VLDL-c, foram associadas à presença de estrias gordurosas encontradas na aorta e artérias coronárias, enquanto a associação foi inversa com lipoproteínas de alta densidade, ou HDL-c.<sup>47</sup> Um grupo multicêntrico de pesquisadores que investiga os determinantes da aterosclerose na juventude (*Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth* -

PDAY) realizou diversos estudos e foram observadas associação dos fatores de risco para doenças cardiovasculares, determinados pós-morte, com lesões ateroscleróticas em adolescentes e adultos jovens que foram vítimas de morte violenta. Nos estudos do grupo, foram verificadas associações entre as concentrações de lipoproteínas de baixa densidade (nãoHDL-c) e a extensão das estrias gordurosas na aorta abdominal, na artéria coronária direita e no ramo descendente da artéria coronária esquerda de adolescentes e adultos jovens.<sup>48</sup>

A V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose<sup>49</sup> e o Programa Nacional de Educação sobre Colesterol (*National Cholesterol Education Program - NCEP*)<sup>50</sup> nos Estados Unidos, recomendam a determinação do LDL-c pela fórmula de Friedewald, como alvo prioritário para avaliação do risco e tratamento para redução de lipídios. Contudo, esse critério não reflete a verdadeira concentração sérica de LDL-c. Além de tratar-se de uma medida indireta, existem outras desvantagens do LDL-c obtido pela fórmula de Friedewald, a qual não avalia outras moléculas consideradas aterogênicas; o valor do LDL-c se torna progressivamente menos acurado com o aumento das concentrações séricas de triglicerídeos e não pode ser calculado quando as mesmas forem maiores que 400,0 mg/dL; e requer jejum de 12 horas, necessário para determinação de triglicerídeos. Por outro lado, o não-HDL-c, calculado pela diferença entre o colesterol total e o HDL-c, incluindo todo o colesterol presente nas moléculas de lipoproteínas consideradas potencialmente aterogênicas (LDL-c, VLDL-c, lipoproteínas de densidade intermediária (IDL) e lipoproteína-A) e excluindo o HDL-c, considerado anti-aterogênico. O cálculo para obtenção do não-HDL-c, além de simples, envolve baixo custo e não sofre influência das concentrações de triglicerídeos. Dessa forma, o não HDL-c traz uma vantagem metodológica adicional, que é a de não exigir jejum de 12 horas. Ainda são raras as investigações abordando o não-HDL-c em populações infanto-juvenis. Os resultados do estudo de Seki e cols. contribuem para uma estimativa dos valores de colesterol não-HDL na população de crianças e adolescentes brasileiros e indicam que o colesterol não-HDL é um método confiável e de menor custo para investigar a presença de dislipidemias em crianças e adolescentes.<sup>49,50</sup>

A aterosclerose inicia na infância. Estudos epidemiológicos têm demonstrado que diversos fatores, que influenciam diretamente na progressão da doença, já podem ser identificados na primeira década de



vida, muito antes da placa formada gerar manifestações de sinais e sintomas de doença cardiovascular.<sup>49,50</sup>

Embora uma história de pais com doença arterial coronariana prematura tem sido reconhecida como um fator de risco para doença cardíaca, não está bem estabelecido quando as anormalidades cardiovasculares possam ser identificadas em indivíduos com este antecedente. A detecção de alterações ateroscleróticas vasculares precocemente na infância poderia auxiliar na identificação de sujeitos com alto risco para esta condição e fornecer estratégias de intervenção precoce, com foco na redução de fatores de risco modificáveis como obesidade, hiperlipidemias, hipertensão arterial sistêmica e tabagismo.

O ultrassom bi-dimensional de alta resolução digital tem se mostrado como um método não invasivo confiável na mensuração da espessura médio-intimal carotídea (EMIC). Já foi descrito por diversos autores um aumento na EMIC de crianças, adolescentes e adultos jovens com história de pais com infarto do miocárdio prematuro.<sup>51,52,53,54,55</sup>

Também foi evidenciado em adultos com DC alteração na EMIC, quando comparados a controles normais.<sup>42</sup> Entretanto, nenhum estudo em crianças ou adolescentes foi realizado, até o momento, associando estas duas condições.

A função cardíaca, tanto sistólica como diastólica, pode estar comprometida em algumas condições. Em artigo do próprio pesquisador com colaboradores, verificou-se que, pacientes portadores do HIV, mas assintomáticos do ponto de vista cardiovascular, apresentaram disfunção diastólica de ambos os ventrículos. Esta ocorrência foi relacionada ao próprio agente causal, ou à ação inflamatória crônica e sistêmica desta condição.<sup>56</sup>

A disfunção ventricular diastólica em fetos com rotura prematura de membranas, com e sem infecção amniótica foi verificada em um estudo anterior, realizado também pelo próprio autor em co-autoria com outros colaboradores. Nesta pesquisa foi relatada a ocorrência de aumento da complacência miocárdica (caracterizada como “floppy heart”), desencadeada por resposta infecciosa e/ou inflamatória, denotando mais uma vez o caráter sistêmico-inflamatório de algumas manifestações cardíacas, mesmo no período pré-natal.<sup>57</sup> Este achado foi diverso do encontrado em fetos com restrição do crescimento intrauterino, secundário à disfunção placentária, que ocasiona hipóxia fetal e uma disfunção diastólica com o mesmo padrão do paciente com isquemia coronariana, ou seja, diminuição da complacência miocárdica, gerando o assim denominado “stiff heart”.<sup>58,59,60,61</sup>

Os valores de referência para os parâmetros ecocardiográficos da função diastólica em pediatria são originados de estudos realizados em outros países. Visando construir valores de referência para o índice de Tei para uma população local, o aluno, em conjunto com outros colaboradores, realizou um estudo com esta finalidade, de modo que hoje já podem ser utilizados estes valores como referência em nosso meio.<sup>62</sup>

Miocardiopatia dilatada é a mais comum entre os tipos de miocardiopatias existentes. Sua etiologia está relacionada a causas genéticas, endocrinopatias, colagenoses, doenças metabólicas congênitas, distrofias musculares, doenças cardíacas estruturais, miocardite aguda e crônica, drogas e toxinas. Recentemente, foi relatada a maior prevalência de DC em pacientes portadores de miocardiopatia dilatada idiopática, bem como em pacientes com miocardiopatia secundária, alertando para a necessidade de ser considerada esta possibilidade causal em todos os pacientes com miocardiopatia dilatada idiopática e, em algumas circunstâncias, também naquelas secundárias. Entretanto, em 50% dos casos sua etiologia permanece desconhecida.<sup>63,64</sup>

## 1.1 JUSTIFICATIVA

A DC tem prevalência de 1% a 1,5% na população. Seu tratamento envolve isenção do glúten na dieta e consequente aumento no consumo de gorduras. Hábito alimentar com grande consumo de gorduras está relacionado, na população geral, com risco de desenvolvimento de doença aterosclerótica. A mortalidade por doença cardiovascular é aumentada em indivíduos com DC e está relacionada com níveis de colesterol, índice de massa corporal e pressão arterial sistêmica alterados.

Sabe-se que a doença aterosclerótica inicia-se na infância e assim sendo, sua prevenção também deve iniciar neste período. Existem poucos estudos relacionando dislipidemia e doença aterosclerótica com DC e nenhum publicado sobre a associação positiva, ou não, de DC com alteração da espessura médio-intimal carotídea.

Por outro lado, apesar de novas novas recomendações para prevenção de doença aterosclerótica em crianças e adolescentes terem sido recentemente publicadas, estas recomendações não incluem crianças ou adolescentes com DC.

Neste sentido, conhecer os fatores de risco cardiovascular subclínicos (EMIC e a função cardíaca sistó-diastólica), o perfil nutricional elaboratorial, principalmente de lipídios e de marcadores inflamatórios, é de fundamental importância para traçar estratégias de prevenção da aterosclerose e, consequentemente, de doenças cardiovasculares, em adultos com DC.

## 1.2 HIPÓTESE DA PESQUISA

As crianças e adolescentes portadores de doença celíaca em tratamento podem apresentar alterações cardiovasculares subclínicas, distúrbios metabólicos e nutricionais, e desenvolverem doenças cardiovasculares precocemente na vida adulta?

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o perfil cardiovascular subclínico, metabólico e nutricional de crianças e adolescentes portadores de DC em tratamento ambulatorial.

## 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.2.1 Descrever aspectos demográficos;
- 2.2.2 Avaliar o estado nutricional;
- 2.2.3 Avaliar bioquimicamente o perfil lipídico sérico (colesterol total e frações, triglicerídeos) e de marcadores inflamatórios séricos (Proteína C-reativa altamente sensível, interleucinas IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IFN-gama e TNF- $\alpha$ );
- 2.2.4 Avaliar por ultrassonografia a espessura médio-intimal da artéria carótida (EMIC) comum direita;
- 2.2.5 Avaliar por ecocardiografia as dimensões das cavidades cardíacas esquerdas e a função sistó-diastólica do ventrículo esquerdo;
- 2.2.6 Verificar associações entre dados demográficos, perfil nutricional, lipídios séricos, marcadores inflamatórios séricos, EMIC, dimensões cardíacas esquerdas e função sistó-diastólica do ventrículo esquerdo, em um grupo com DC, em um grupo de crianças e adolescentes saudáveis, e entre ambos.



### 3 MÉTODO

Esta pesquisa foi observacional, transversal e prospectiva, realizada no HIJG da SES-SC.

O estudo foi delineado de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas envolvendo Seres Humanos (Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde) e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição participante, sob o protocolo de número 550.201, de 06/03/2014 (Anexo 1).

#### 3.1 Participantes – grupo DC

A amostra definida como DC foi de crianças e adolescentes portadoras de DC, com 2 anos a 18 anos incompletos de idade, em acompanhamento no Ambulatório de Nutrologia/ Núcleo de Assistência ao Paciente Celíaco, os quais compõem uma população aninhada em uma coorte em seguimento neste Serviço. O diagnóstico confirmatório de DC foi efetuado utilizando-se os critérios da ESPGHAN, e todos estavam em tratamento regular com dieta isenta de glúten há no mínimo 1 ano.

A amostra de crianças e adolescentes saudáveis, definida como controle, foi de voluntários, amigos dos próprios familiares e/ou dos pacientes com DC, ou filhos e/ou amigos de funcionários do HIJG, que espontaneamente se propuseram a participar da pesquisa após convite informal por parte do pesquisador e equipe auxiliar (duas técnicas de enfermagem do Serviço de Cardiologia do HIJG).

A proporção entre o número de participantes no grupo DC (crianças e adolescentes com DC) e no grupo controle (crianças e adolescentes saudáveis) foi de 1 para 1 e pareados, respectivamente, por faixa etária, sexo e estado nutricional.

#### 3.2 Critérios de exclusão – grupo DC

As crianças e adolescentes cujos pais ou responsável legal não concordassem com o estudo e não assinassem o termo de consentimento informado livre e esclarecido, ou adolescentes que não concordassem com o estudo e não assinassem o termo de assentimento

As crianças e adolescentes com cardiopatia congênita ou adquirida, tumores cardíacos, arritmias, síndromes genéticas e/ou outras doenças crônicas ou condições não relacionadas à DC, endocrinopatias,

vasculites, lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatóide juvenil, nefropatias, hepatopatias, Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida, portadores do HIV, neoplasia, obesidade, tabagismo, e com história familiar de doença arterial coronariana/infarto agudo do miocárdio prematuro (abaixo de 50 anos de idade).

Para avaliar se os indivíduos selecionados poderiam continuar como participantes da pesquisa, todos foram submetidos a uma avaliação clínica e ecocardiográfica (modo bidimensional, modo-M e modo Doppler espectral), com o objetivo de descartar cardiopatias congênitas, tumores cardíacos e arritmias. Se ainda elegível para o estudo, o exame ecocardiográfico completo era finalizado posteriormente.

### **3.3 Participantes - grupo controle**

Após o encerramento da inclusão dos DC, foram selecionadas crianças e adolescentes com idade entre 2 anos e 18 anos incompletos, sem DC e saudáveis, que se apresentaram voluntariamente para a pesquisa, que se propuseram a esta participação quando foram convidados informalmente pelo pesquisador e equipe auxiliar para o estudo em andamento.

No contato telefônico prévio, era enfatizado que haveria possibilidade de participarem da pesquisa somente se não fossem portadores da DC, ou de suspeição prévia da mesma ou por ocasião da entrevista com o pesquisador ou da avaliação nutricional com o Nutrólogo Pediátrico, e que preenchessem os pré-requisitos de pareamento com os componentes do grupo DC, ou seja, sexo, idade e estado nutricional.

### **3.4 Critérios de exclusão – grupo controle**

As crianças ou adolescentes cujos pais ou responsável legal não concordassem com o estudo e não assinassem o TCLE, e adolescentes que não concordassem com o estudo e não assinassem o Termo de Assentimento, e aquelas com qualquer das condições excludentes para o grupo DC.

No período de julho a outubro de 2014, trinta e cinco (35) indivíduos foram arrolados para o estudo. Desses, cinco (5) foram excluídos e trinta (30), que preencheram os critérios de inclusão, constituíram a amostra inicial do grupo DC. Do grupo controle foram excluídos dois (2) dos trinta e dois (32) indivíduos selecionados, devido

obesidade, restando trinta (30) participantes neste grupo, como amostra inicial (Tabela 1).

**Tabela 1** - Causas da exclusão para a composição das amostras iniciais nos grupos DC e controle. HIJG, julho a dezembro de 2014.

<b>Causa da exclusão DC</b>	<b>N</b>
Síndrome de Down	01
Síndrome Genética com agravo neurológico, sob investigação	01
Idade > 18 anos completos	01
Diagnóstico de DC falso- positivo	01
Obesidade	01
<b>Total</b>	<b>05</b>
<b>Causa da exclusão Controle</b>	
Obesidade	02
<b>Total</b>	<b>02</b>

Fonte: produzido pelo autor

### 3.5 PROCEDIMENTOS

A seleção dos potenciais participantes, no dia agendado por telefone, foi efetuado pelo autor, inicialmente com o grupo DC e posteriormente com o grupo Controle.

No momento do agendamento telefônico o familiar ou responsável legal recebia a orientação para que a criança ou adolescente cumprisse um jejum absoluto de doze (12) horas, considerando que a coleta sanguínea seria efetuada entre as 07:30h e 09:00h da data programada. Esta abordagem consistiu de uma explanação sobre o estudo e de um novo convite a participar do mesmo. Havendo concordância, o participante foi submetido ao exame físico e ao ecocardiograma inicial.

Os equipamentos utilizados para os exames ecocardiográficos e ultrassonográficos foram SonoSite Turbo® e SonoSite MicroMaxx®.

Se elegível emanando a concordância quanto à sua participação, o pai, a mãe ou o responsável legal assinou um TCLE, e quando adolescente, este assinou o “Termo de Assentimento”,



orientados pelo autor ou pela equipe auxiliar (Anexos 1,2,3,e 4), e recebeu uma via do mesmo. A partir da aceitação, iniciou-se a coleta dos dados.

A sequência dos exames foi variável, de acordo com a chegada dos participantes, de forma a otimizar o tempo de permanência no Hospital. Todos os procedimentos foram realizados no mesmo dia e os participante só foram liberados ao término da realização de todos eles.

A avaliação nutricional foi realizada por um membro do Serviço de Nutrologia, com aferição por meio de equipamentos adequados e devidamente calibrados, do peso (em quilogramas) e da estatura (em centímetros, convertidos em metros) e anamnese dirigida à história familiar, dietética e de atividade física.

As avaliações ecocardiográfica e ultrassonográfica da carótida comum direita foram efetuadas pelo autor de acordo com as técnicas preconizadas pela American Society of Echocardiography<sup>65</sup> e utilizando os equipamento já citados, sem cegamento.

As coletas sanguíneas foram realizadas nas dependências do Laboratório Ciência, empresa legalmente contratualizada pela SES-SC para prestação de serviços no HJG, e realizada por técnico legalmente habilitado para tal. A coleta consistiu de três (3) amostras armazenadas em tubos de ensaio das quais, após centrifugação, separou-se três alíquotas de 1ml de soro, colocadas em três (3) tubos tipo *ependorf*, os quais foram rotulados apenas com os códigos de identificação na pesquisa (iniciando com M1 e seguindo a sequência fornecida pelo pesquisador, conforme a ordem de entrada no estudo, até o último participante do dia e do estudo). Este material foi imediatamente acondicionado em uma caixa térmica com gelo triturado ou gelo seco, e levados, em no máximo duas (2) horas, ao LANDI do CFSF-CCB da UFSC, para armazenamento em *freezer* a uma temperatura controlada em -80°C, com total segurança de estabilidade, preservação e conservação, de acordo com os preceitos éticos e técnico-científicos.

### 3.6 Variáveis

Foram observadas as seguintes variáveis:

3.6.1 Sexo: feminino e masculino;

3.6.2 Idade em meses e em anos: calculadas pela data de nascimento e data da coleta;

3.6.3 Escores-z do IMC: obtidos pela fórmula do IMC e utilizando as tabelas de referência da World Health Organization (WHO, Organização Mundial da Saúde -OMS), Genebra, Suíça;<sup>66</sup>

3.6.4 Dosagem sanguínea da Hb, em g/dL e obtenção do Ht em %; do CT e de suas frações (HDL-c e LDL-c), ambos em mg/dL; dos TG (mg/dL); do anticorpo anti-gliadina IgA (mg/dL); e da PCR-as em mg/L. O não HDL-c foi calculado subtraindo-se a fração HDL-c do CT, mantendo a mesma unidade de medida.

3.6.5 Dosagem sérica das citocinas IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , realizadas no LANDI/CSF/CCB/UFSC de acordo com as instruções dos fabricantes. A leitura foi realizada após 30 minutos, em leitora de placa de ELISA, empregando feixe de luz com comprimento recomendado pelo fabricante do *kit*.

### **3.7 Estudo ecocardiográfico com Doppler pulsado espectral: transdutor setorial de 3,5 a 5 MHz de frequência.**

3.7.1 Ondas EVM e AVM: obtidas pelo estudo Doppler, guiado pelo ecocardiograma bidimensional, em cm/s.

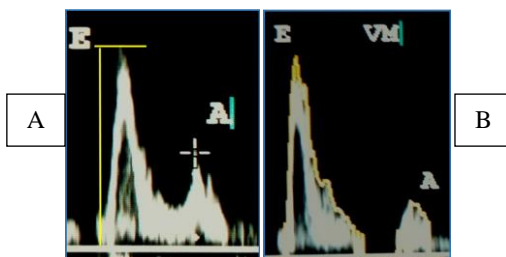
O corte ultrassonográfico empregado para a obtenção das velocidades máximas destas ondas foi o apical 4 câmaras, com ângulo de insonação igual ou inferior a 30° e a amostragem de volume de 5mm situada na ponta dos folhetos valvares, na superfície ventricular correspondente.

3.7.2 Onda EVM: resultante da fase diastólica inicial, ou enchimento ventricular passivo. Sua velocidade máxima corresponde à distância de seu pico até a linha de base. Unidade de medida: cm/s.

3.7.3 Onda AVM: resultante da fase diastólica final, ou enchimento ventricular ativo, decorrente da contração atrial. Sua velocidade máxima corresponde à distância de seu pico até a linha de base. Unidade de medida: cm/s.

A Figura 1 ilustra um exemplo das ondas EVM e AVM, e as técnicas de mensuração, manual e semi-automática (tracejamento das ondas por *software* do equipamento).

**Figura 1** – Ilustração dos traçados ecocardiográficos dos fluxos das velocidades E e A da valva mitral, e exemplos de mensuração das velocidades (A=manual, B=semi-automática).



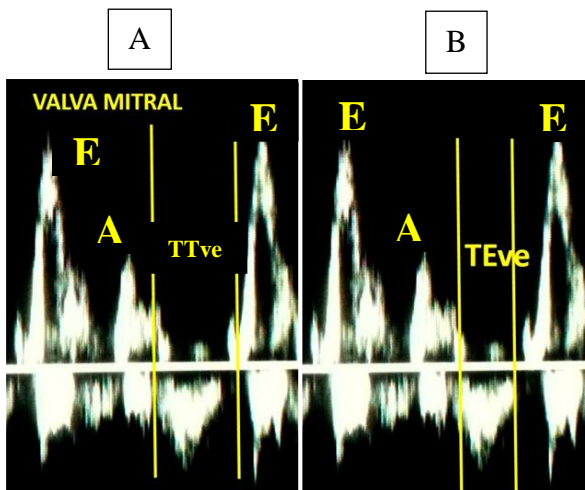
Fonte: produzido pelo autor a partir dos exames realizados no estudo E-EVM (Doppler pulsado espectral); A=AVM(Doppler pulsado espectral).

3.7.4 TTive: soma do TCivecom o TRive, ou TTve, tempo entre o final da onda AVM e o início da onda EVM subsequente, menos o Teve (que equivale ao TTive). Esta segunda fórmula foi a utilizada nesta pesquisa para o cálculo do TTive.

Estas medidas foram obtidas no corte apical de 5 câmaras, com ângulo de insonação igual ou inferior a 30°, com o participante em leve decúbito lateral esquerdo e a amostragem de volume ampliada para 15mm e posicionada na transição entre o fluxo de entrada mitral e o fluxo da via de saída do VE. Unidade de medida: ms.

A Figura 2 ilustra um exemplo da medida do TeiVE com imagens do fluxo das ondas utilizadas para os cálculos bem como a técnica de medida dos intervalos.

**Figura 2** – Ilustração dos traçados ecocardiográficos dos fluxos simultâneos das vias de entrada e de saída do VE , com exemplo da mensuração do TTive (= TTve-TEve), utilizado para o cálculo do TeiVE.



Fonte: produzido pelo autor a partir dos exames realizados no estudo E-EVM (Doppler pulsado espectral); A=AVM (Doppler pulsado espectral); s'-componente sistólico do movimento miocárdico (Doppler pulsado tecidual do anel mitral lateral); TTve=tempo entre o final da AVM e início da EVM subsequente); TEve=Tempo de ejeção do VE.

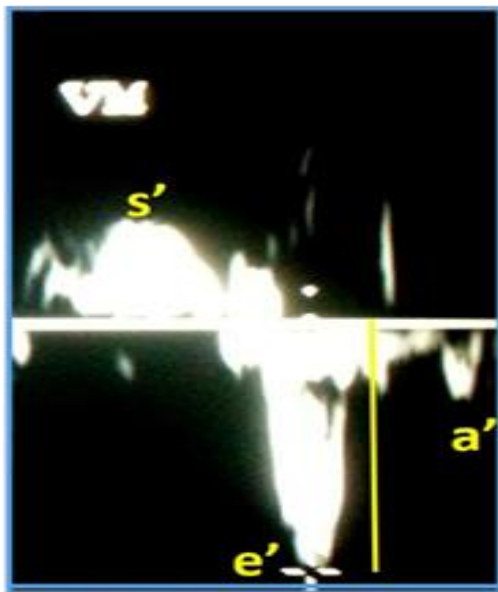
Com estas médias procedeu-se ao cálculo do TeiVE:

TeiVE:  $(TTve-TEve)/TEve$ . Sem unidade de medida (proporção)

### 3.8 Estudo ecocardiográfico com Doppler pulsado tecidual: transdutor setorial de 3,5 a 5 MHZ de frequência.<sup>67,68</sup>

3.8.1 e'VM: corresponde à velocidade máxima miocárdica no início da diástole. Foi obtida com a amostra de volume de 5mm do módulo de Doppler pulsado tecidual, localizada no anel lateral da valva mitral, ao nível da inserção de seu folheto posterior. O corte empregado foi o apical de 4 câmaras, com ângulo de insonação igual ou inferior a 30°, com o participante em leve decúbito lateral esquerdo (Figura 3).

**Figura 3** – Ilustração do traçado ecocardiográfico das ondas da movimentação miocárdica ao nível do anel mitral lateral, obtidas pelo Doppler pulsado tecidual, e exemplo de mensuração manual da velocidade da onda e'.

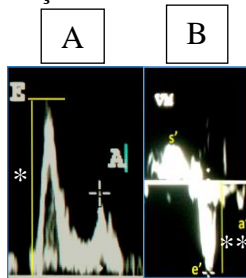


Fonte: produzido pelo autor a partir dos exames realizados no estudo e'-e'VM; s'-componente sistólico do movimento miocárdico (Doppler pulsado tecidual do anel mitral lateral); a'-componente diastólico final do movimento miocárdico (Doppler pulsado tecidual do anel mitral lateral).

3.8.2 Relação da onda EVM com a onda e'VM (relação E/e'): relação entre as médias das ondas E e e'. Sem unidade de medida (proporção).

Esta relação é obtida por meio da proporção entre a velocidade E do fluxo da valva mitral (Doppler espectral) e a velocidade e' do movimento miocárdico obtido no anel lateral da valva mitral (Doppler tecidual), sendo um indicador tanto da função sistólica como da função diastólica do VE (a Figura 4 ilustra os traçados destas ondas e como mensurar seus picos de velocidade).

**Figura 4** – Ilustração das ondas do fluxo mitral e da movimentação miocárdica (A= velocidade de pico da EVM pelo Doppler pulsado espectral e B=velocidade da e'VM pelo Doppler pulsado tecidual), e exemplo da mensuração manual das respectivas velocidades.



Fonte: produzido pelo autor a partir dos exames realizados no estudo E-EVM (Doppler pulsado espectral); A=AVM (Doppler pulsado espectral); s'-componente sistólico do movimento miocárdico (Doppler pulsado tecidual do anel mitral lateral); a'-componente diastólico final do movimento miocárdico (Doppler pulsado tecidual do anel mitral lateral).

\*Medida da velocidade da EVM \*\*Medida da velocidade da e'

### 3.9 Estudo ecocardiográfico com o modo-M: transdutor setorial de 3,5 a 5 MHz de frequência.

3.9.1 DdVE e DsVE: obtidos por meio do corte longitudinal paraesternal

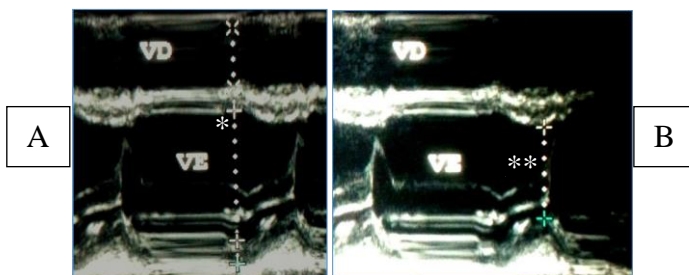
pelo modo-M guiado pelo modo bidimensional, com o cursor posicionado na porção de entrada da cavidade, imediatamente abaixo da extremidade dos folhetos da valva mitral. O DdVE corresponde ao maior diâmetro cavitário (do pico diastólico máximo, a partir do endocárdio do septo interventricular até o endocárdio da parede ventricular posterior, coincidindo com o pico da onda R no eletrocardiograma), sendo sua unidade de medida em mm (Figura 5).

3.9.2 O DsVE corresponde ao menor diâmetro cavitário (do pico sistólico máximo, a partir do endocárdio do septo interventricular até o endocárdio da parede ventricular posterior, sendo sua unidade de medida em mm (Figura 5).

3.9.3 Delta D do VE obtido por meio da fórmula:  

$$\left( \frac{DdVE - DsVE}{DdVE} \right) \times 100$$
 expresso em percentual (%).

**Figura 5** – Traçados do ecocardiograma modo-M e exemplo de mensuração das medidas do DdVE (A) e do DsVE (B).

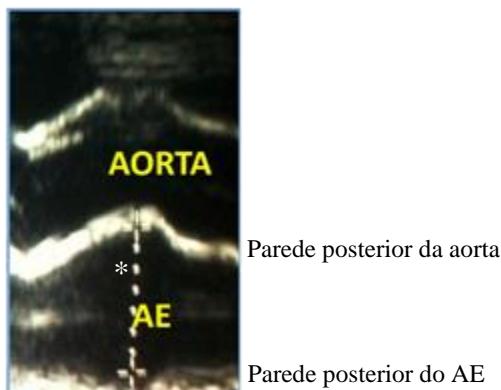


Fonte: produzido pelo autor a partir dos exames realizados no estudo  
VD-ventrículo direito; VE-ventrículo esquerdo

\*Medida do diâmetro diastólico do VE \*\*Medida do diâmetro sistólico do VE

3.9.4 Diâmetro do AE: obtido no corte longitudinal paraesternal, com Cursor posicionado perpendicularmente, ao nível da valva aórtica. O diâmetro máximo do AE foi medido da porção externa da parede da aorta ascendente proximal, até a parede interna posterior do AE (Figura 6), no final da sístole. Unidade de medida: mm

**Figura 6** – Traçado do ecocardiograma modo-M e exemplo de mensuração do diâmetro do AE.



Fonte: produzido pelo autor a partir dos exames realizados no estudo

\*Medida do diâmetro do AE

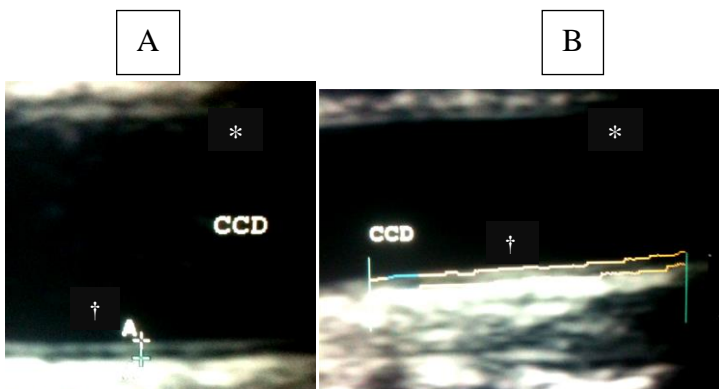
Todos os valores utilizados para as análises foram as médias aritméticas de 3 medidas das variáveis ecocardiográficas consideradas

adequadas e selecionadas como as de melhor qualidade em termos de definição dos traçados e/ou intervalos de tempo.

### 3.10 Estudo ultrassonográfico da carótida direita:transdutor linear de 10 MHZ de frequência.

3.10.1 EMIC: obtida pela medida da espessura da camada médio-intimal da carótida direita, no pico sistólico, no máximo até 10 mm de distância de seu bulbo, por aferição semi-automática (*software* dos equipamentos), com o participante em decúbito dorsal, pescoço levemente estendido e rotacionado para o lado contralateral (Figura 7). Unidade de medida:mm.

**Figura 7-** Imagens do US da carótida comum direita, com exemplos de mensuração da EMIC (A= manual e B= semi-automática).



Fonte:produzido pelo autor a partir dos exames realizados no estudo CCD-carótida comum direita; \*Parede anterior da CCD; †Parede posterior da CCD (A:medida manual; B: medida semi-automática, empregada no estudo)

O valor final destas medidas foi o resultado da média aritmética de três medidasconsecutivas, no mesmo traçado, considerados como de melhor qualidade para as aferições.

Todas as medidas foram feitas pelo pesquisador, sem cegamento, durante arealização do exame, na própria tela do monitor, empregando um programacomputadorizado dos próprios equipamentos, sendo armazenadas eletronicamente.



### **3.11 Definição, categorização e valores de referência das variáveis:**

3.11.1 Grupo etário - classificado em 2 categorias, de acordo com a idade em anos

3.11.1.1.Crianças:  $2 \text{ anos} \leq \text{idade} < 10 \text{ anos}$

3.11.1.2 Adolescentes:  $10 \text{ anos} \leq \text{idade} < 18 \text{ anos}$

3.11.2 Estado nutricional, classificado em três categorias, considerando os escores estabelecidos pela OMS:<sup>66</sup>

3.11.2.1 Magreza:  $-3 \leq \text{Escore } z < -2$

3.11.2.2 Eutrofia:  $-2 \geq \text{Escore } z < +1$

3.11.2.3 Sobrepeso:  $+1 \geq \text{Escore } z < +2$

3.11.3 Concentração sanguínea da Hb - classificada em categorias:<sup>69</sup>

Método:automação

3.11.3.1 Sem anemia:  $\text{Hb} \geq 11,0 \text{ g/dL}$ ;

3.11.3.2 Anemia leve:  $10,0 \geq \text{Hb} < 11,0 \text{ g/dL}$ ;

3.11.3.3 Anemia moderada:  $8,0 \geq \text{Hb} < 10,0 \text{ g/dL}$ ;

3.11.3.4 Anemia grave:  $\text{Hb} \leq 8,0 \text{ g/dL}$ .

3.11.4 Concentração sérica dos lipídios – valores de referência para as idades, conforme diretrizes da SBC, considerando os níveis desejáveis, classificados em normal, aumentado ou baixo.<sup>49</sup>

Método:esterase-peroxidase

3.11.4.1 CT normal:  $\leq 170 \text{ mg/dL}$  e aumentado:  $> 170 \text{ mg/dL}$

3.11.4.2 HDL-c normal:  $\geq 45 \text{ mg/dL}$  e baixo:  $< 45$

3.11.4.3 LDL-c normal:  $\leq 130 \text{ mg/dL}$  e aumentado:  $> 130 \text{ mg/dL}$

3.11.4.4 Não-HDL-c normal:  $\leq 145 \text{ mg/dL}$  e aumentado:  $> 145 \text{ mg/dL}$

3.11.4.5 Triglicerídeos: normal  $\leq 150$  e aumentado  $> 150 \text{ mg/dL}$

3.11.5 Concentração sérica da PCR-as de acordo com os valores de referência da técnica laboratorial empregada:

Método:turbidimetria

Valores de referência:

3.11.5.1 Normal:  $\leq 3,0$  mg/dL

3.11.5.2 Aumentada:  $> 3,0$  mg/dl

3.11.6 Concentração do anticorpo anti gliadina IgA – valores de referência de acordo com a técnica laboratorial empregada:

Método: ELISA

Valores de Referência:

3.11.6.1 Normal:  $< 7,00$  UI/ml

3.11.6.2 Inconclusivo:  $7,00-10,00$  UI/ml

3.11.6.3 Positivo:  $>10,00$  UI/ml

3.11.7 Relação E/AVM - classificada em 3 categorias:<sup>69,70,71,72,73</sup>

3.11.7.1 Normal:  $1,33 \geq E/AM \leq 2,39$  e correspondendo à ausência de disfunção diastólica;

3.11.7.2 Inferior:  $<1,33$  e correspondendo à disfunção diastólica do tipo relaxamento anormal;

3.11.7.3 Superior:  $>2,39$  e correspondendo à disfunção diastólica do tipo comprometimento da complacência miocárdica.

3.11.8 Relação E/e' da valva mitral - classificada em normal e alterada:<sup>65</sup>

3.11.8.1 Normal:  $\leq 9,0$

3.11.8.2 Alterada:  $>9,0$  e correspondendo à disfunção diastólica do VE (não especificada).

3.11.9 DdVE: classificado em normal e aumentado (de acordo com valores de referência normais para a idade)<sup>74,75</sup>

3.11.9.1 Normal: diâmetro normal para a faixa etária

3.11.9.2 Aumentado: diâmetro  $>$  do que o máximo normal para a faixa etária.

3.11.10 Delta D do VE- classificado em normal e diminuído<sup>74,75</sup>

3.11.10.1 Normal:  $\geq 26\%$

3.11.10.2 Diminuído:  $<26\%$

3.11.11 Diâmetro do AE – classificado em normal e aumentado (de acordo com os valores de referência normais para a idade):<sup>74,75</sup>

3.11.11.1 Normal: diâmetro  $\leq$ normal

3.11.11.2 Aumentado: diâmetro  $>$  do que o máximo normal

3.11.12 EMIC- classificada em normal e aumentada (de acordo com valores de referência normais para a idade e sexo, pelo percentil 95):<sup>76,77,78</sup>

3.11.12.1 Normal: diâmetro  $\leq$ percentil 95

3.11.12.2 Aumentada: diâmetro  $>$ percentil 95

### **3.12 Análise estatística:**

As observações foram estruturadas em uma base de dados, utilizando-se o programa Excel 7.0(Microsoft®) e, para a análise estatística, utilizou-se os programas Statistica Release 7 (StatSoft®) e o GraphPad Prism 4 (GraphPad Software®).

Os procedimentos estatísticos utilizados foram: medidas descritivas(média e desvio padrão - DP), tabelas de frequências, o Teste-t para diferenças entre médias e diferenças entre proporções (nível de significância com  $\alpha$  de 0,05), a Análise Fatorial com componentes principais (AFCP), a Análise Discriminante (AD) e a Análise de Correspondência Múltipla (ACM).<sup>79</sup> Os testes de análise multivariada (AFCP, AD e ACM) foram utilizados para investigar associação entre as variáveis. Foram consideradas variáveis suplementares, na ACM, os grupos DC e controle.

Procedeu-se, então, às técnicas exploratórias multivariadas para identificar agrupamentos de variáveis. Inicialmente, utilizou-se a AFCP, para avaliar o grau de associação entre variáveis contínuas.

Posteriormente, utilizou-se a AD, empregada para identificar as características que distinguem os grupos entre si, bem como a capacidade de prever que, quando presente, estará associada ao grupo com quem mostrou correlação (probabilidade posterior).

Nesta análise utilizou-se um nível de significância  $\alpha$  de 0,05 e a estatística lambda ( $\lambda$ ) de Wilks, que é uma distribuição de probabilidade utilizada em análises multivariadas, a qual desempenha, em combinação com variáveis dependentes, o mesmo papel do F na análise de variância univariada.<sup>79</sup>

A estatística  $\lambda$  de Wilks é uma medida inversa do grau de diferenciação entre os grupos: quanto menor o seu valor, maior esse grau de diferenciação. Quanto maior for a semelhança entre os dois determinantes, menores serão as diferenças entre os grupos e mais o valor do  $\lambda$  de Wilks se aproximará de 1.<sup>79</sup>

Finalmente, empregou-se a ACM. Este teste estatístico para os dados de um estudo, denominado análise fatorial de correspondência múltipla ou, simplesmente, ACM, é uma técnica descritiva/exploratória, que possibilita analisar variáveis categóricas, dispostas em tabelas de contingência, de onde podem surgir padrões de associação de variáveis.

A ACM é um método que foi desenvolvido para enfatizar a análise exploratória de dados categóricos (*data mining*). Portanto, não existem testes de significância estatística habitualmente utilizados, aplicáveis para os resultados da análise de correspondência. O propósito primário desta técnica é produzir uma representação gráfica simplificada de dados dispostos em uma ampla tabela de frequências (Tabela de Burt) e verificar a existência e força de associação analisando-se a inércia existente entre as variáveis suplementares e as demais em estudo, em duas ou mais dimensões, bem como os autovalores (*eigenvalues*) gerados na análise.

Para possibilitar as análises estatísticas por meio do banco de dados estruturado com os valores obtidos no estudo, as variáveis em observação, estas foram qualificadas em contínuas e/ou categóricas, e estas codificadas, conforme discriminado no Quadro 1.

Quadro 1- Qualificação das variáveis. HIJG, julho a dezembro de 2014.

Nome	Caracterização	Abreviatura	Codificação
Grupos do estudo	Categórica	G	DC=1 Controle=0
Sexo	Categórica	S	Feminino=0 Masculino=1
Idade	Contínua	IDn	N/A
Idade	Categórica	ID	<10ANOS=0 ≥10 ANOS=1
IMC (escore z)	Contínua	MCz	N/A
IMC (escore z)	Categórica	MC	Eutrofia=0 Sobrepeso=1 Magreza=2
CT	Contínua	CT	N/A
Colesterol total	Categórica	C	Normal=0 Aumentado=1
HDL-c	Contínua	HDL-c	N/A
HDL-c	Categórica	H	Normal=0 Baixo=1
LDL-c	Contínua	LDL-c	N/A
LDL-c	Categórica	L	Normal=0 Aumentado=1
Não HDL-c	Contínua	NHDL-c	N/A
Não HDL-c	Categórica	NH	Normal=0 Aumentado=1
TG	Contínua	TG	N/A
TG	Categórica	T	Normal=0 Aumentado=1
PCR-as	Contínua	PCR-AS	N/A
PCR-as	Categórica	PC	Normal=0 Aumentado=1
Ht	Contínua	Ht	N/A

Quadro 1- Qualificação das variáveis. HIJG, julho a dezembro de 2014 (conclusão).

Hb	Contínua	Hb	N/A
IL-1 $\beta$	Contínua	I1 $\beta$	N/A
IL-1ra	Contínua	I1ra	N/A
IL-2	Contínua	I2	N/A
IL-4	Contínua	I4	N/A
IL-6	Contínua	I6	N/A
IL-10	Contínua	I10	N/A
IL-17	Contínua	I17	N/A
IFN- $\gamma$	Contínua	INF	N/A
TNF- $\alpha$	Contínua	TNF	N/A
EMIC	Contínua	EC	N/A
EMIC	Categórica	ECc	Normal=0
			Aumentado=1
DdVE	Categórica	VEc	Normal=0
			Aumentado=1
Diâmetro do AE	Categórica		N/A
Relação E/AVM	Contínua	EAM	N/A
Relação E/AVM	Categórica	EAMc	Normal=0
			Diminuída=1
			Aumentada=2
TeiVE	Contínua	TeiE	N/A
TeiVE	Categórica	TeiEc	Normal=0
			Aumentado=1
Delta D do VE	Contínua	Delta D	N/A
E/e'VM	Contínua	Ee'	N/A

Fonte:produzido pelo autor

N/A:não se aplica

### **3.13 Critérios Éticos**

Os pais ou responsável legal das crianças e adolescentes, bem como os adolescentes, receberam informações sobre o estudo e o TCLE, ou o Termo de Assentimento, para assinarem, e permitirem o desenvolvimento da pesquisa.

Todos os dados coletados foram armazenados, e apenas os pesquisadores terão acesso aos mesmos. Após cinco (5) anos estes registros serão incinerados ou eliminados da maneira pertinente.

## 4 RESULTADOS

De acordo com os critérios aplicados foram arroladas trinta (30) pacientes para o grupo DC (com DC), sendo vinte (20) do sexo feminino (67%) e dez (10) do masculino (33%), e trinta (30) participantes saudáveis no grupo Controle, dos quais 16 foram do sexo feminino (53%) e 14 (47%) do sexo masculino. O Teste-t indicou que não existiu diferenças entre os grupos para as proporções entre os sexos feminino e masculino.

As Tabelas 2 e 3 indicam as características das duas amostras em relação às variáveis não laboratoriais e laboratoriais estudadas.

**Tabela 2** – Medidas descritivas das variáveis não laboratoriais e o  $p_{\text{valor}}$  para o Teste-t. HIJG, julho a dezembro de 2014.

VARIÁVEIS	DC	CONTROLE	Teste t
	Média±DP	Média±DP	$p_{\text{valor}}$
Idade (meses)	110,53±44,41	155,30±33,90	0,5754
Idade (anos)	9,21±4,12	9,80±4,54	0,6001
E/AVM	2,02±0,71	2,10±0,64	0,8445
E/e'VM	5,29±1,16	6,16±1,41	<b>0,0200*</b>
TeiVE	0,35±0,09	0,39±0,09	0,0905
Delta D (%)	37,27±3,24	39,38±4,53	<b>0,0268*</b>

Fonte: produzido pelo autor

\*  $p_{\text{valor}}$  significativo para  $\alpha$  de 0,05



**Tabela 3** – Medidas descritivas das variáveis laboratoriais e o p<sub>valor</sub> para o Teste-t. HIJG, julho a dezembro de 2014.

VARIÁVEIS	DC	CONTROLE	Teste t
	Média±DP	Média±DP	P <sub>valor</sub>
Anti-gliadina*	*	*	*
CT (mg/dL)	179,53±44,41	155,30±33,90	<b>0,0268</b> <sup>†</sup>
HDL (mg/dL)	44,34±12,48	40,43±18,91	0,3485
LDL (mg/dL)	122,25±50,00	96,16±37,03	<b>0,0253</b> <sup>†</sup>
Não HDL (mg/dL)	134,67±49,22	119,71±46,46	0,2310
TG (mg/dL)	65,8±32,01	99,29±44,37	<b>0,0140</b> <sup>†</sup>
PCR-AS <sup>‡</sup>	4,64±5,05	6,63±5,95	0,1742
Ht (%) <sup>§</sup>	39,67±3,01	39,40±3,67	0,1678
Hb (g/dL) <sup>§</sup>	13,27±1,11	13,38±1,36	0,5922
IL-1β (pg/ml)	0,25±0,14	0,31 ±0,09	<b>0,0829</b>
IL-1ra (pg/ml)	2,62 ± 9,45	2,88 ± 7,81	0,2236
IL-2 (pg/ml)	55,03 ± 97,03	67,51 ± 94,72	0,6159
IL-4 (pg/ml)	3,23 ±9,50	9,20 ± 18,78	0,1261
IL-6 (pg/ml)	13,27 ± 33,11	51,06 ± 115,70	<b>0,0909</b>
IL-10 (pg/ml)	6,35 ± 11,88	9,32 ± 33,59	<b>0,0731</b>
IL-17 (pg/ml)	1,40 ± 3,33	1,22 ± 10,70	0,7688
IFN-γ (pg/ml)	67,19 ± 143,95	16,942±29,54	<b>0,0661</b>
TNF-α (pg/ml)	4,17 ± 106,90	9,00 ± 145,1	0,1459

Fonte: produzido pelo autor

\*Variável normal para todos os participantes, e alguns resultados com valor numérico normal indefinido (<1,0), impossibilitando cálculos;

<sup>†</sup>p<sub>valor</sub>significante para α de 0,05

Analisando-se as Tabelas 2 e 3 verificou-se que quatro das variáveis apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre as médias ( $p_{\text{valor}} < 0,05$ ): o CT, que apresentou concentrações médias mais elevadas no grupo de DC; o LDL-c, com o mesmo comportamento; os TG, com a média maior no grupo controle, e o Delta D do VE, cuja média foi menor no grupo com DC.

Quanto à IL-1 $\beta$ , à IL-6, à IL-10 e ao IFN- $\gamma$ , o  $p_{\text{valor}}$  foi próximo do nível de significância quando comparadas as médias entre os dois grupos por meio do Teste-t.

Observou-se, na Tabela 4, que houve diferença estatística significativa entre as proporções da PCR-as ( $p_{\text{valor}} = 0,0220$ ), prevalecendo no grupo Controle, e a EMIC aumentada ( $p_{\text{valor}} = 0,0049$ ) no grupo DC.

**Tabela 4** – Classificação das variáveis e o  $p_{\text{valor}}$  para o Teste-t. HIJG, julho a dezembro de 2014.

Variáveis categorizadas	DC		CONTROLE		Teste-t $p_{\text{valor}}$
	n (total)	Proporção	n (total)	Proporção	
Idade $\geq 10a$	15(30)	0,50	15(30)	0,50	1,0000
Idade $< 10a$	15(30)	0,50	15(30)	0,50	1,0000
IMC aumentado	09(30)	0,30	04(30)	0,13	0,1444
CT aumentado	11(30)	0,37	15(30)	0,50	0,3485
HDL-c baixo	19(30)	0,63	20(30)	0,67	0,7465
LDL-c aumentado	10(30)	0,33	5(30)	0,17	0,1578
Não HDL-c aumentado	05(30)	0,17	08(30)	0,27	0,3537
TG aumentado	01 (30)	0,03	05(25)	0,13	0,1588
PCR-as aumentada	10(30)	0,33	21(28)	0,75	<b>0,0220</b> *

**Tabela 4**—Classificação das variáveis e o  $p_{\text{valor}}$  para o Teste-t.HIJG, julho a dezembro de 2014 (conclusão).

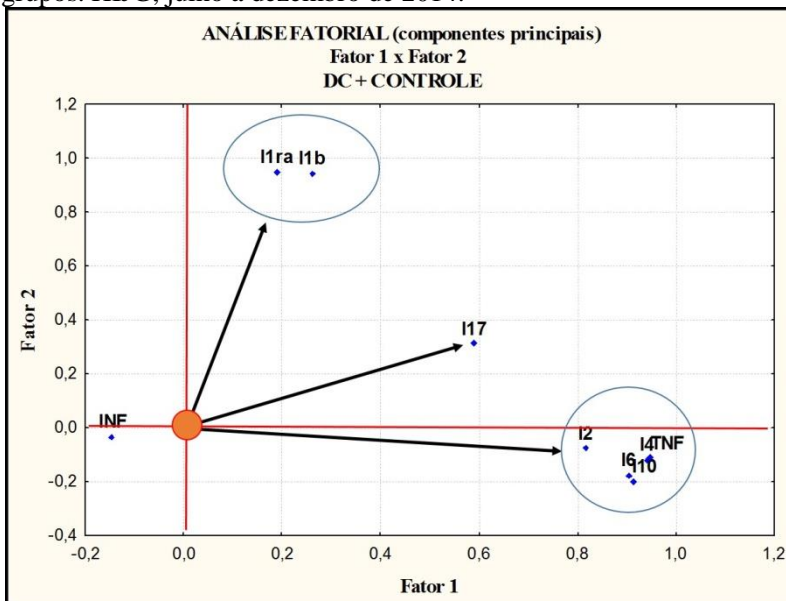
EMIC aumentada	16(30)	0,53	05(30)	0,17	<b>0,0049*</b>
E/AVM alterada	07(30)	0,24	07(30)	0,24	1,0000
TeiVE aumentado	04(30)	0,13	07(30)	0,23	0,3176
DdVE aumentado	04(30)	0,13	03(30)	0,10	0,7170
AE aumentado	01(30)	0,03	04(30)	0,13	0,1588

Fonte: produzido pelo autor.

\* $p_{\text{valor}}$ significante para  $\alpha$  de 0,05

Com a finalidade de avaliar a possibilidade de correlações entre as diversas variáveis do estudo, por meio de seus valores numéricos brutos, procedeu-se a uma das técnicas exploratórias multivariadas, a AFPCP, com dois fatores. Verificou-se, por esta análise, que o IFN- $\gamma$  se mostrou isolado, distante das demais variáveis e sem força de associação (Figura 8). Já a IL-17 e as IL-1 $\beta$  e IL-1ra apresentaram uma correlação forte e mútua com o fator 1, enquanto as IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 e o TNF- $\alpha$  com o fator 2, como demonstrado na Figura 8.

**Figura 8-** AFPC com dois fatores para as interleucinas de ambos os grupos. HIJG, julho a dezembro de 2014.

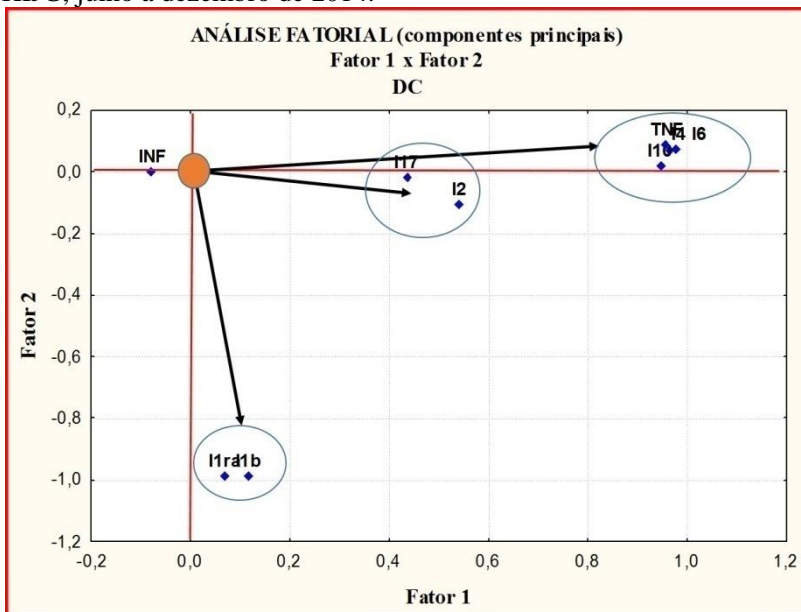


Fonte: produzido pelo autor

IFN- $\gamma$ :interferon- $\gamma$ ; I1ra:IL-1ra; I1 $\beta$ :IL-1 $\beta$ ; I17:IL-17; I2:IL-2; I6:IL-6; I10:IL-10; I4:IL-4; TNF:TNF- $\alpha$ .

Esta avaliação resultou em um panorama geral das interleucinas, sem caracterizar precisamente se houve influência do grupo a que pertenciam ( DC ou Controle). Para se explorar esta possibilidade, repetiu-se a Análise Fatorial mas de forma individualizada, ou seja, para o grupo DC e para o grupo Controle, separadamente (Figuras 9 e 10).

**Figura 9-** AFPC com dois fatores para as interleucinas do grupo DC. HIJG, julho a dezembro de 2014.

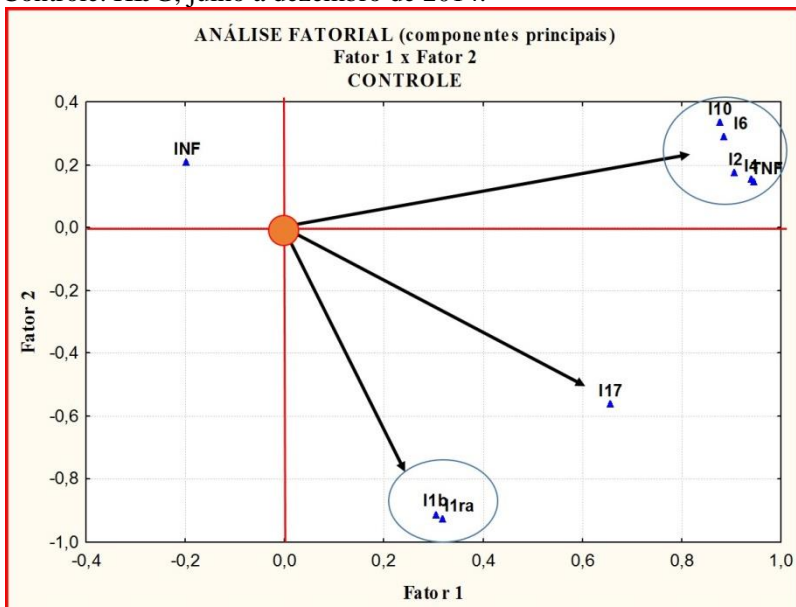


Fonte: produzido pelo autor

IFN-interferon- $\gamma$ ; I1ra:IL-1ra; I1 $\beta$ :IL-1 $\beta$ ; I17:IL-17; I2:IL-2; I6:IL-6; I10:IL-10; I4:IL-4; TNF:TNF- $\alpha$ .

Verificou-se, nesta primeira condição (Figura 9), agrupamentos semelhantes das variáveis, mas em quadrantes opostos ao constatado na Figura 8. As IL-1 $\beta$  e IL-1ra continuaram fortemente associadas, mas ao fator 1, enquanto as IL-4, IL-6, IL-10 e TNF- $\alpha$ , apesar de plotadas no mesmo quadrante, revelaram maior correlação com o fator 2. A IL-17 manteve o mesmo padrão e a IL-2 se aproximou do maior agrupamento, no quadrante superior direito.

**Figura 10-** AFCP com dois fatores para as interleucinas do grupo Controle. HIJG, julho a dezembro de 2014.



Fonte: produzido pelo autor.

IFN:interferon- $\gamma$ ; I1ra:IL-1ra; I1 $\beta$ :IL-1 $\beta$ ; I17:IL-17; I2:IL-2; I6:IL-6; I10:IL-10; I4:IL-4; TNF:TNF- $\alpha$ .

A análise da Figura 10 permitiu caracterizar a forte associação das IL-1 $\beta$  e IL-1ra entre si e com o fator 1, e que a IL-2 mostrou robusta correlação com o maior agrupamento (IL-4, IL-6, IL-10 e TNF- $\alpha$ ), no quadrante superior direito.

Com o intuito de aprofundar a análise exploratória, testou-se as variáveis por meio da Análise Discriminante (AD), também multivariada, de forma a investigar a possibilidade das interleucinas apresentarem correlação específica com algum dos grupos sob estudo.

Na Tabela 5 verificou-se que as variáveis IL-1 $\beta$  e IL-1ra apresentaram poder de discriminação, com  $p_{\text{valor}} < 0,05$ , e na Tabela 6 que a IL-1 $\beta$  discriminou o grupo controle e a IL-1ra o grupo DC, ou seja, dentre as interleucinas, apenas estas apresentaram poder estatístico de discriminar, ou identificar, associação com um destes grupos.

Tabela 5- AD com as interleucinas de ambos os grupos, com seus valores brutos. HIJG,julho a dezembro de 2014.

Variável	Sumário da análise		
	$\lambda$ de Wilks	$\lambda$ parcial	P
<b>I1<math>\beta</math></b>	<b>0,834109</b>	0,767868	<b>0,000299*</b>
<b>I1ra</b>	<b>0,801042</b>	0,799565	<b>0,000875*</b>
I2	0,666087	0,961565	0,163642
I4	0,675357	0,948366	0,105226
I6	0,656478	0,975639	0,269190
I10	0,642221	0,997298	0,714375
I17	0,644303	0,994075	0,587545
INF	0,670795	0,954815	0,130296
TNF	0,671613	0,953652	0,125339

Fonte: produzido pelo autor

$\lambda$  de Wilks: 0,64049;  $p < 0,0047$ ; \* $p_{\text{valor}}$ significante para  $\alpha$  de 0,05

INF:IFN- $\gamma$ ; I1ra:IL-1ra; I1 $\beta$ :IL-1 $\beta$ ; I17:IL-17; I2:IL-2; I6:IL-6; I10:IL-10; I4:IL-4;TNF:TNF- $\alpha$ .

Tabela 6 – Classificação das funções da análise discriminante com as interleucinas, para o grupo Controle e o grupo DC. HIJG, julho a dezembro de 2014.

VARIÁVEL	CONTROLE	DC
<b>I1<math>\beta</math></b>	<b>61,11663</b>	19,48671
<b>I1ra</b>	-4,36157	<b>0,60692</b>
I2	0,00456	0,01106
I4	-0,15287	0,02789
I6	0,00985	-0,00137
I10	-0,01008	-0,01166
I17	-0,93020	-0,66322
INF	0,00471	0,00947
TNF	0,11301	0,02929
Constante	-9,82831	-7,20240

Fonte: produzido pelo autor.

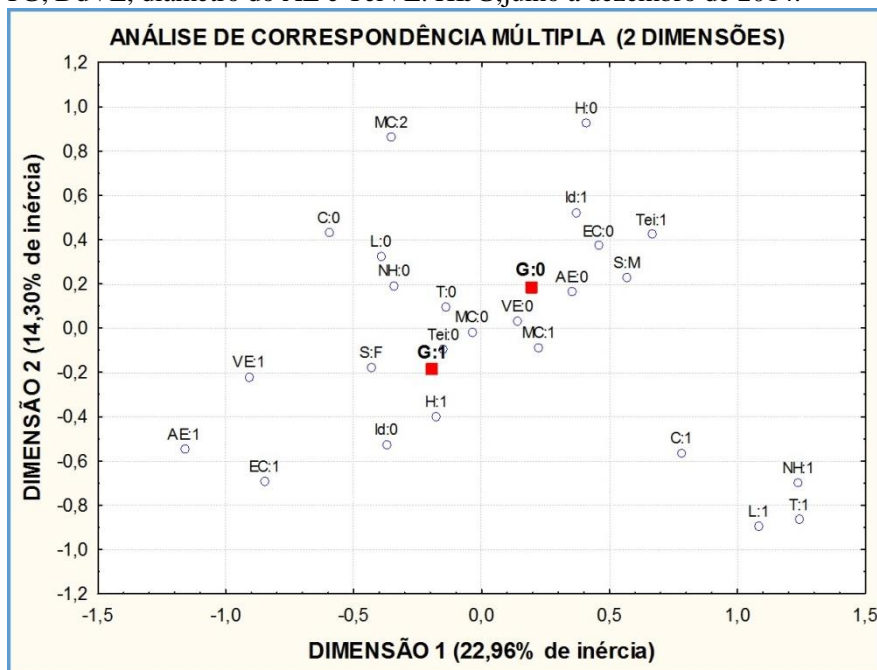
Legenda: IFN:IFN- $\gamma$ ; I1ra:IL-1ra; I1 $\beta$ :IL-1 $\beta$ ; I17:IL-17; I2:IL-2; I6:IL-6; I10:IL-10; I4:IL-4; TNF:TNF- $\alpha$ .

Como a EMIC revelou diferença estatística significativa quando categorizada, com maior proporção de alteração no grupo DC (Tabela 3), procedeu-se à Análise Discriminante com as interleucinas, em relação aos dois grupos em estudo, DC e Controle. Entretanto, nenhuma das interleucinas mostrou poder discriminante em relação às categorias da EMIC.

Em relação à análise multivariada com as variáveis categóricas grupo, sexo, idade, escore z do IMC, EMIC, colesterol total, HDL-c, não HDL-c, LDL-c, TG, DdVE, diâmetro do AE e TeiVE, foi utilizada a ACM, sob duas dimensões, conforme apresentado na Figura 11.



**Figura 11-** ACM com as variáveis categorizadas grupo (suplementar) sexo, idade, escore z do IMC, EMIC, CT, HDL-c, não HDL-c, LDL-c, TG, DdVE, diâmetro do AE e TeiVE. HIJG, julho a dezembro de 2014.



Fonte: produzido pelo autor

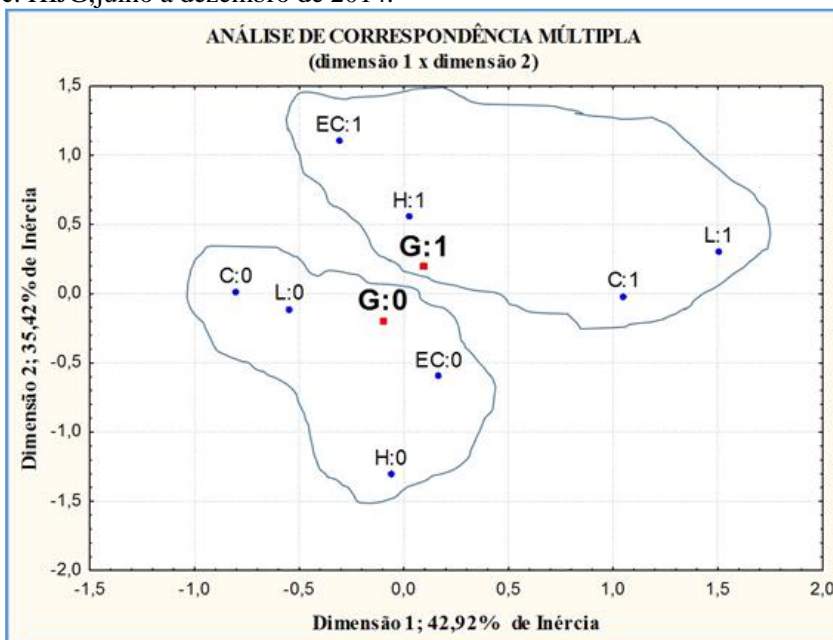
G:0-grupo Controle; G:1-grupo DC; S:0-sexo feminino; S:1-sexo masculino; Id:0-idade menor que 10 anos; Id:1-idade igual ou maior que 10 anos; MC:0-eutrofia; MC:1-sobrepeso; MC:2-magreza; EC:0-EMIC normal; EC:1-EMIC aumentada; C:0-colesterol total normal; C:1-colesterol total aumentado; L:0-LDL-c normal; L:1-LDL-c aumentado; H:0-HDL-c normal; H:1-HD-c baixo; NH:0-não-HDL-c normal; NH:1-não-HDL-c aumentado; T:0-TG normal; T:1-TG aumentado; AE:0-diâmetro do AE normal; AE:1-diâmetro do AE aumentado; VE:0- DdVE normal; VE:1-DdVE aumentado; Tei:0-TeiVE normal; Tei:1-TeiVE aumentado.

Entretanto, como se constata na Figura 11, a inércia total com duas dimensões foi de 37,26% (22,96% da dimensão 1 e 14,30% da dimensão 2), sem poder para inferências.

Em vista disto, novas ACM foram realizadas, com exclusão, passo a passo, de uma das variáveis, mantendo-se sempre aquelas que indicaram correlações na primeira e nas subsequentes,

observando-se um aumento progressivo da inércia total. Ou seja, a adição de mais variáveis na primeira análise (figura 11) enfraqueceu o poder de correlação. O resultado final, após esta depuração, encontra-se na figura 12.

**Figura 12-** ACM com as variáveis categorizadas grupo (suplementar), EMIC, CT, HDL-c e LDL-c, com exclusão das categorias DdVE, diâmetro do AE, TeiVE, z escore do IMC, sexo, idade, TG e não-HDL-c. HIJG, julho a dezembro de 2014.



Fonte: produzido pelo autor

G:0-controle; G:1- DC; EC:0-EMICnormal; EC:1-EMICaumentada; C:0-CT normal; C:1-CT aumentado; L:0-LDL-c normal; L:1-LDL-c aumentado; H:0--c normal; H:1-HDL-c baixo.

O gráfico da figura 12, onde a inércia total foi de 78,34% com duas dimensões, demonstrou que o LDL-c normal e a EMIC normal se correlacionaram fortemente com os indivíduos saudáveis (G:0), e o CT normal e o HDL-c normal também, mas com menor intensidade. Já o HDL-c baixo e a EMICda carótida direita aumentada mostraram significativa associação com o grupo DC, o que ocorreu com menor força com o CTaumentado e o LD-c aumentado.

Os cálculos intermediários da ACM, onde se observou o aumento progressivo da inércia total, conforme a exclusão passo a passo de variáveis, encontram-se disponíveis na seção APÊNDICES (Apêndices F a L)

## 5 DISCUSSÃO

A doença celíaca é uma condição crônica, a qual perdura por toda a vida e envolve o comprometimento nutricional, um amplo espectro de sintomas e tratamento dietético constante.

O impacto da dieta isenta de glúten (DIG) no estado nutricional e em outros parâmetros bioquímicos têm sido sistematicamente investigados. Nesta pesquisa o objetivo foi verificar, além destes aspectos, marcadores inflamatórios e cardiovasculares subclínicos em crianças e adolescentes com DC em tratamento, adotando-se como hipótese a possibilidade destes indivíduos apresentarem, mesmo com a DIG, fatores de risco cardiovascular em decorrência de distúrbios lipídicos e inflamatórios, provocados pelo próprio tratamento.<sup>80</sup>

A inflamação tem um papel fundamental na patogênese da aterosclerose e considera-se que células imunes pró-inflamatórias ativadas na DC podem promover o desenvolvimento de lesões ateroscleróticas. A DC é uma doença inflamatória intestinal imuno-mediada, na qual o glúten e proteínas relacionadas induzem linfócitos T CD4<sup>+</sup> específicos.<sup>81</sup>

Estas células são ativadas na lâmina própria do intestino delgado por peptídeos ligados às moléculas DQ<sub>2</sub> e DQ<sub>8</sub>, localizadas na superfície de células apresentadoras de antígenos. A desaminação da glutamina em resíduos do ácido glutâmico pela transglutaminase tecidual provoca polaridade negativa nos peptídeos do glúten, aumentando significativamente sua ligação com as moléculas do HLA da classe II. Na evolução, linfócitos T sensíveis ao glúten liberam uma cascata de citocinas, o IFN- $\gamma$ , e em menor quantidade, a IL-6 e o TNF- $\alpha$ . A superexpressão de citocinas pró-inflamatórias estimulam outras células, incluindo macrófagos e fibroblastos, os quais potencializam a resposta inflamatória. A inflamação, por sua vez desencadeia a destruição da arquitetura do intestino delgado, com hiperplasia das criptas e atrofia vilositária. As respostas inflamatórias do sistema imune da mucosa intestinal em pacientes com DC não são limitadas ao intestino delgado. Linfócitos T específicos para peptídeos do glúten desaminados pela transglutaminase tecidual foram encontrados no sangue periférico de pacientes com DC, sem tratamento.<sup>83</sup>

A análise do perfil das citocinas mostrou que os linfócitos e macrófagos circulantes secretam IFN- $\gamma$  e IL-6.<sup>83</sup> Portanto, células pró-inflamatórias encontradas no sangue de celíacos podem ativar processos que induzem à aterosclerose.<sup>42</sup> Em pacientes com aterosclerose, a

presença de percentuais aumentados de linfócitos T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> produtores de IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  em placas complexas, em comparação com placas simples, suporta o conceito de que as células T têm um importante papel na progressão das lesões ateroscleróticas.<sup>84</sup>

Recentemente, foi proposto que a IL-17, produzida por células T-*helper*17 (Th17), estaria envolvida na patogênese da DC e da aterosclerose.<sup>85</sup>

Embora o glúten seja o principal gatilho externo da DC, sua ingestão não explica por completo sua patogênese. Embora a DIG provoque melhora nas lesões da mucosa intestinal, não corrige a ativação aumentada da via de sinalização dos marcadores do IFN- $\gamma$ . Então, outros fatores ambientais devem estar envolvidos no início e na evolução dos processos patológicos da DC. Achados recentes têm implicado a microbiota intestinal como contribuinte nas doenças autoimunes e inflamatórias.<sup>45</sup> Alterações na microbiota intestinal também estão envolvidas na patogênese de outras doenças metabólicas graves, incluindo obesidade, diabetes e aterosclerose.<sup>86</sup>

As modificações oxidativas do LDL-c têm uma participação essencial na patogênese da aterosclerose, iniciando e acelerando o desenvolvimento de lesões ateroscleróticas precoces.<sup>87</sup> Já foi demonstrado que sequências da gliadina contém regiões que não só liberam citocinas pró-inflamatórias mas também desencadeiam o estresse oxidativo.<sup>88</sup>

Baseado nestes fatos, o risco aumentado de aterosclerose em celíacos sem tratamento poderia ser explicado pela participação dos peptídeos da gliadina na modificação oxidativa do LDL-c, mas o impacto da microbiota intestinal destes pacientes no risco subjacente para doenças cardiovasculares ainda permanece indefinido.<sup>89</sup>

Em um estudo foi aventada a hipótese de que o aumento do receptor *toll-like* TLR9 no duodeno pode contribuir para a resposta Th1 (aumento do IFN- $\gamma$ ), na mucosa do intestino delgado de pacientes celíacos mesmo após a instituição da DIG.<sup>90</sup>

Devido a estas questões, atreladas à patogênese e evolução da DC em crianças e adolescentes, foi planejada e realizada esta pesquisa, avaliando-se marcadores laboratoriais e subclínicos de doenças cardiovasculares, envolvidos no desenvolvimento direto, ou indireto, da aterosclerose.

Para obter estas informações, foram investigadas 30 indivíduos portadores da DC (DC) e 30 indivíduos sem DC e saudáveis (Controle). De

acordo o Teste-tas amostras pareadas por sexo, idade e estado nutricional (pelo escore z do IMC), foram homogêneas (Tabelas 2 e 3).

O anticorpo antiIgA, parâmetro sanguíneo utilizado para avaliar se a DC estava em remissão, mostrou-se normal em todos, inclusive naqueles do grupo controle, corroborando as informações colhidas nas entrevistas com os pais, ou responsável legal, e com os próprios participantes que assinaram o Termo de Assentimento, de que a DIG estava sendo cumprida regularmente. Para o grupo Controle, o resultado foi como esperado, pois nenhum dos participantes relatou sintomas ou suspeita, em qualquer período anterior, de DC, ou na avaliação clínica do Nutrólogo Pediátrico houve suspeição da doença.

O perfil lipídico de pacientes portadores de DC, com ou sem tratamento, já foi amplamente pesquisado, e os resultados de algumas destas pesquisas mostraram achados discordantes. Em algumas verificou-se que os lipídios aumentaram quando instituída a DIG, em outras que diminuíram após um período de pelo menos um ano de dieta, e que não havia alterações neste perfil nos pacientes ao diagnóstico e nem após o tratamento.

Em vista disto, foram dosados os lipídios de todos os participantes desta pesquisa, encontrando-se, segundo a Tabela 2, que os triglicerídeos apresentaram valores médios maiores no grupo Controle do que no grupo DC ( $p_{\text{valor}}=0,0140$ ), mesmo estando abaixo do valor máximo normal de referência. Quando analisado por categoria (aumentado x normal), não houve diferença estatística entre os grupos. Ou seja, os TG apresentaram valores médios mais baixos nos celíacos do que nos indivíduos saudáveis, apontando que a DIG possa estar influenciando neste diferencial.

O CT apresentou concentrações maiores no grupo DC, com média de  $179,53 \pm 44,41 \text{ mg/dL}$ , e menores no grupo Controle, com média de  $155,30 \pm 33,90 \text{ mg/dL}$ , com  $p_{\text{valor}}=0,0268$ . Quando categorizado (normal x aumentado), não houve diferença entre os grupos.

Esta constatação alerta para o que vários autores já apontaram em suas pesquisas, verificando que o colesterol total aumenta nos celíacos em tratamento, em virtude da DIG, que promove a substituição de carboidratos por alimentos ricos em gordura, desencadeando esta dislipidemia. Entretanto, há controvérsias a este respeito, e algumas pesquisas revelaram não haver esta alteração, nem para os diagnosticados recentemente, nem para aqueles em tratamento e nem para os não diagnosticados.<sup>91,92</sup>

Segundo Brar et al pacientes com DC acompanhados por uma mediana de 20,5 meses, sob rigorosa DIG, mostraram aumento do CT e da fração HDL-c, mas não aumento do LDL-c.<sup>93</sup>

Nesta pesquisa, com os pacientes em tratamento por no mínimo um (1) ano, o LDL-c também foi mais alto no grupo DC (média de  $122,25 \pm 50,00$  mg/dL) do que no grupo Controle (média de  $96,16 \pm 37,03$  mg/dL), com  $p_{\text{valor}}$  de 0,0253 (Tabela 2). Quando avaliado por categorias, não houve diferença estatística.

O papel do LDL-c na patogênese da aterosclerose já está amplamente estabelecido, bem como sua participação no desenvolvimento da cascata inflamatória no intestino delgado em pacientes com DC, devido sua interação com os peptídeos da gliadina. Esta conjugação desempenha também importante função no desenvolvimento e/ou progressão da inflamação endotelial, aumentando o risco de eventos cardiovasculares precoces. Portanto, este resultado corrobora os da literatura pesquisada e alerta para a necessidade de monitoramento contínuo dos indivíduos com DC, principalmente crianças e adolescentes, nos quais o processo aterosclerótico se inicia de forma incipiente mas pode ser acelerado na presença de fatores de risco, como esta dislipidemia.

O HDL-c não apontou diferenças entre os grupos, nem em seus valores brutos nem quando categorizado (baixo x normal). Observou-se, entretanto, que em ambos as médias estão abaixo do valor de referência normal ( $\geq 45$ mg/dL), mesmo que limítrofe, como aconteceu no grupo DC (média de  $44,34$ mg/dL), observado na Tabela 2. Este achado alerta para a mesma questão do seguimento rigoroso dos celíacos e da necessidade de instituir medidas que promovam sua elevação, ou seja, além dos ajustes dietéticos, a associação e/ou incremento de atividades físicas, por exemplo, já que esta fração lipídica se contrapõe aos efeitos nocivos do LDL-c.

Os resultados do não HDL-c, apresentados nas Tabelas 2 e 3, não foram estatisticamente diferentes entre os grupos estudados, mesmo quando categorizados (normal x aumentado). Apesar do conceito atual de que este valor seria mais importante em termos de risco de aterogênese, já que representa todas as frações nocivas do colesterol, além do LDL-c, e não demandaria a dosagem das mesmas, acarretando menos custos ao sistema de saúde, neste trabalho, porém, para as amostras estudadas, não contribuiu para possíveis inferências. Apenas se poderia aventar a possibilidade da DIG estar influenciando no metabolismo das frações não dosadas.

Em relação aos lipídios, especificamente o CT e suas frações, os resultados aqui relatados se contrapõem aos de alguns estudos publicados, merecendo especial atenção por parte da equipe assistencial multiprofissional e evidenciando a necessidade de novos estudos, com amostras ampliadas, de forma a maximizar os resultados e minimizar eventual viés de seleção.

Portanto, as evidências sugerem que a aderência à DIG deva ser estritamente controlada em todos os pacientes celíacos, com monitoramento laboratorial periódico e sistemático, com os ajustes necessários em cada etapa da evolução, mais ainda nas crianças e adolescentes, que apresentam frequentes transformações metabólicas por conta dos ciclos de crescimento.

Os resultados da PCR-as, em valores brutos, não demonstraram qualquer indicativo, fossem DC ou Controle, pois não houve diferença estatística. Entretanto, quando categorizados (normal x aumentada), verificou-se que no grupo Controle a proporção de aumentada foi bem maior do que no DC, um resultado inusitado, com  $p_{\text{valor}}$  de 0,0220, denotando a inconsistência deste parâmetro como indicador de inflamação neste estudo. Como esta variável bioquímica é utilizada sistematicamente na prática clínica, este achado alertou para a necessidade de não ser um parâmetro para ser analisado isoladamente e, se possível, outros marcadores clínicos e laboratoriais deverão ser agregados, para composição da matriz de investigação e do acompanhamento da DC.

Quanto ao Ht e Hb, nenhuma diferença foi observada entre os grupos, com as médias muito semelhantes, denotando que tanto os participantes do grupo DC, sob DIG e os do grupo Controle, sob dieta normal, tinham uma ingestão/absorção de ferro adequadas. Apenas um paciente com DC apresentou Hb <11,0g/dL; nos restantes 59 participantes estava normal. Alguns autores alegam que a anemia hipocrômica seja um sinal de alerta para DC em adultos e que todos os pacientes com este perfil deveriam ser rastreados, por meio do HDL-c, para DC.<sup>53</sup> Neste grupo, aqui investigado, esta premissa não se aplicaria, haja vista a ínfima proporção de anemia encontrada.

Foram estudadas nove (9) interleucinas séricas, seis (6) pró-inflamatórias (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-17, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ ) e três anti-inflamatórias (IL-1ra, IL-4, IL-10). A inclusão destas últimas adveio da hipótese acerca do processo inflamatório, provocado pela ação das ILs na mucosa intestinal, na qual o organismo, objetivando manter a homeostase tecidual, reage à agressão, acionando mecanismos de



bloqueio, nos quais a ação das ILs anti-inflamatórias assumem fundamental papel.

De acordo com o Teste-t , não houve diferença estatística significante entre as médias das concentrações das ILs entre os grupos. Somente a IL-6, a IL-10 e o IFN- $\gamma$  apresentaram o  $p_{\text{valor}}$  mais próximo do nível de significância  $\alpha$ , sugerindo que mesmo sob uma DIG o organismo parece manter o processos de inflamação e anti-inflamação em atividade.

Na figura 8, Análise Fatorial (AF) com todas as ILs, chegou-se à conclusão de que as IL-1 $\beta$  e IL-1ra apresentaram-se agrupadas, com comportamento semelhante em ambos os grupos. Como a IL-1 $\beta$  é pró-inflamatória e a IL-1ra anti-inflamatória, e os participantes do grupo DC estavam em tratamento, deduziu-se que, neste cenário, houve um equilíbrio na secreção de ambas, sem definição de associação com um ou outro grupo, ou seja, que a DIG provocou, possivelmente, este equilíbrio, conforme também verificado anteriormente em outro estudo.<sup>11</sup>

Além deste aspecto, as Figuras 8, 9 e 10 revelaram outro agrupamento de ILs que apresentou comportamento praticamente homogêneo: IL-4, IL-6, IL-10, e TNF- $\alpha$ , com a IL-2, na AF por grupos separados, também agregando-se a este grupo. Como algumas são pró-inflamatórias e outras anti-inflamatórias, estarem agrupadas foi interpretado como equilíbrio, ou seja, de maneira generalizada, não houve predomínio de umas sobre as outras. A IL-10 e o IFN- $\gamma$  situaram-se isoladamente na plotagem, sem apontarem tendência de agregação entre si ou com os outros dois grupos de ILs, ou seja, provável comportamento antagônico, como sugerido por Björck e colaboradores.<sup>11</sup>

Prosseguiu-se com técnicas exploratórias, por meio da AD, como mostram as Tabelas 5 e 6 (ILs relacionadas ao grupo DC e ao grupo Controle). Em ambos os cenários somente a IL-1 $\beta$  e a IL-1ra apresentaram poder discriminante, mas agora possibilitando a identificação de suas correlações. A IL-1 $\beta$  mostrou associação com o grupo controle, enquanto a IL-1ra com o grupo DC. Desta análise deduziu-se que a secreção da IL-1ra foi maior nos participantes com DC, novamente denotando o possível processo contínuo do organismo em manter a homeostase intestinal. Estes achados corroboram os aspectos levantados pela literatura pesquisada, que apontam para a questão da multifatorialidade nas doenças imunes, e muito especificamente, na DC, já abordados anteriormente nesta seção.<sup>11</sup>

Já a IL-1 $\beta$ , pró-inflamatória, apresentou menor concentração no grupo DC provavelmente por diminuição de sua secreção, em decorrência da DIG, na qual não há, ou há muito pouca, exposição ao agente desencadeante do processo, o glúten e seus derivados.

Finalmente, explorou-se as variáveis categorizadas, por meio da ACM. As Figuras 11 e 12, que representam graficamente suas distribuições, revelaram uma baixa inércia total (autovalores muito baixos), quando as principais variáveis do estudo foram analisadas em conjunto, sem oportunizar inferências acerca de seus comportamentos. Mas quando excluiu-se algumas variáveis, mantendi-se aquelas que já vinham demonstrando correlação, por meio das análises anteriormente efetuadas, desde o Teste-t até a AD, constatou-se uma elevação da inércia total, conferindo robustez aos achados da Figura 13.

Com inércia total de 78,34%, sob duas dimensões, demonstrou-se que o LDL-colesterol normal e a EMIC normal se correlacionaram fortemente com os indivíduos saudáveis, e o CT normal e o HDL-c normal também, mas com menor intensidade. Já o HDL-c baixo e a EMIC aumentada mostraram significativa associação com os indivíduos celíacos, o que ocorreu com menor força com o CT aumentado e o LDL-c.

Ou seja, os potenciais fatores de risco cardiovascular se mostraram ainda presentes nesta amostra de pacientes sob tratamento, enquanto no grupo controle não houve fator de risco associado, corroborando a complexidade da DC, e a necessidade de novas investigações, experimentais e clínicas, que forneçam subsídios para novas formas de controle e de tratamento desta grave enfermidade.

Em relação aos marcadores cardiovasculares subclínicos estudou-se, além da EMIC, as dimensões das cavidades esquerdas, e as funções sistólica (Delta D) e diastólica (relação E/AVM e a relação E/e'VM) do VE, haja vista a expressiva literatura apontando comprometimento funcional do miocárdio em pacientes com DC, tanto pediátricos como adultos. Não se verificou alterações específicas nas funções do VE, provavelmente por não serem indivíduos sem tratamento, mas já em DIG. Para esta abordagem mais abrangente das funções cardíacas não se encontrou paralelo na literatura disponível, sendo este estudo inovador neste aspecto.

Considerando a EMIC na DC, também não se encontrou referência na literatura disponível, sobre este parâmetro na faixa etária aqui estudada, podendo-se considerar esta pesquisa inédita neste aspecto.

Na Tabela 3 verifica-se que a EMIC aumentada predominou no DC, com um  $p_{\text{valor}}$  de 0,0049. Ou seja, este marcador subclínico de aterosclerose esteve fortemente presente neste grupo, que estava sob DIG, mais uma vez enfatizando que não é só a exclusão do glúten que soluciona a doença. Outros fatores subjacentes mantêm-se em atividade, exigindo controle extremamente rigoroso, por meio de acompanhamento clínico e de exames complementares, sendo a EMIC um a ser considerado, devido sua importância neste contexto.

Muitas teorias têm sido propostas para explicar o desenvolvimento de miocardiopatia na DC.<sup>94,95</sup> Uma delas sugere que a má-absorção intestinal leva a deficiência nutricional e outra sugere que estas anormalidades desencadeiam um aumento da absorção de antígenos e agentes infecciosos, os quais acabam por afetar o miocárdio. Finalmente, a resposta imune direta pode causar danos à mucosa intestinal e ao miocárdio.<sup>96</sup>

A ecocardiografia com Doppler tecidual tem sido amplamente reconhecida como uma técnica eficiente na determinação subclínica da função ventricular em algumas situações, como regurgitações valvares, cardiotoxicidade por antracíclicos, estágio precoce de miocardiopatias e rejeição em transplantes cardíaco.<sup>97,98,99,100,101</sup> Pequeno número de estudos têm relatado o papel do Doppler tecidual na DC.<sup>102,103</sup> Mas os métodos ecocardiográficos convencionais como o bidimensional, o modo-M e o Doppler espectral ainda têm sido utilizados para a avaliação das dimensões cavitárias bem como para a análise funcional.

Quanto às dimensões do VE, que quando aumentadas podem sugerir disfunção, observou-se, conforme a Tabela 3, que o aumento do VE ou do AE não revelaram diferenças entre os grupos DC e Controle.

A relação E/AVM mitral apresentou-se anormal em 7 indivíduos do DC e 7 do controle, sendo inespecífica para identificar disfunção diastólica do VE na DC, diferentemente dos pacientes portadores do HIV, conforme os achados de estudo realizado pelo pesquisador e colaboradores, no qual houve alteração em significativa proporção dos participantes.<sup>56</sup>

A relação E/e'VM, que alterada indica disfunção diastólica do VE, apresentou valores normais em todos os participantes, mas quando analisadas suas médias pelo Teste-t, houve diferença estatística entre os grupos ( $p_{\text{valor}}=0,0200$ ), sendo menor no DC. Este achado, a princípio, não tem valor biológico, e não aponta para disfunção incipiente, pois esta é assim considerada quando o valor da relação está limítrofe com o valor máximo normal e associada com outros parâmetros

ecocardiográficos alterados. Esta variável provavelmente estaria melhor definida se a amostra estudada fosse numericamente maior, ou se os indivíduos não estivessem sob DIG.

Já em relação ao Delta D, parâmetro ecocardiográfico da função sistólica do VE, este não apresentou alteração em ambos os grupos mas sua média foi ligeiramente menor no grupo DC (Tabela 2). Pelo Teste-t a diferença entre as médias foi significativa ( $p_{\text{valor}}=0,0268$ ), permitindo inferir que nos celíacos aqui investigados o desempenho sistólico do VE foi discretamente menor do que nos participantes normais. Porém, isoladamente este achado não apresenta valor biológico, por não ter apresentado valores compatíveis com depressão miocárdica em nenhum dos grupos.

O TeiVE, outro marcador subclínico da função cardiovascular sisto-diastólica, apesar de que quando categorizado revelou alguns indivíduos com valores aumentados, no Teste-t não mostrou diferença significativa entre as médias de ambos os grupos. Este achado corrobora aqueles da relação E/e' da valva mitral e do Delta D, que também não identificaram alterações, somente a tendência do Delta D ser ligeiramente inferior nos pacientes com DC, mas na faixa da normalidade. Novamente se enfatiza que os participantes estavam em tratamento, o que pode ter influenciado a avaliação destes parâmetros.



## 6 CONCLUSÕES

Os aspectos demográficos não alteram o perfil cardiovascular subclínico, metabólico e nutricional em crianças e adolescentes com DC, em dieta isenta de glúten por pelo menos um ano. Entretanto, quando comparados com um grupo saudável, estatisticamente semelhante ou seja, homogêneos em termos de sexo, idade e estado nutricional, apresentam dislipidemia, fator de risco cardiovascular, e a EMIC aumentada, indicativo de aterosclerose subclínica, este um achado nunca relatado anteriormente. Mostram também marcadores pró e anti-inflamatórios com um padrão que sugere que, mesmo sem glúten, o organismo parece manter ativos mecanismos pró e anti-inflamatórios.

### 6.1 RESPOSTA À HIPÓTESE DA PESQUISA

As crianças e adolescentes, portadores de doença celíaca em tratamento, não apresentam distúrbio nutricional, mas desenvolvem alterações cardiovasculares subclínicas e metabólicas, podendo, por isto, desencadear aterosclerose e, por consequência, doenças cardiovasculares premente na vida adulta.



## **7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO**

Esta pesquisa apresenta limitações em termos do tamanho amostral e pela não realização da dosagem das citocinas no tecido duodenal e em indivíduos ainda sem tratamento, bem como as medidas ecocardiográficas e ultrassonográficas terem sido realizadas pelo autor do estudo, sem cegamento, mas com minimização deste viés pela utilização de técnicas semi-automáticas para suas aferições.

Sugere-se, então, novas pesquisas complementares, contemplando maior número de participantes, novas variáveis e novas condições metodológicas, que permitam extrair informações comparáveis com as aqui apresentadas, e outras adicionais, que possam contribuir cada vez mais para o diagnóstico precoce, na compreensão, na prevenção de complicações e no tratamento desta grave condição, a DC.





## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A complexidade que envolve a DC, em todos os seus aspectos, é um desafio permanente para os profissionais da saúde, para os familiares e para os próprios pacientes. Por ser o tratamento aparentemente simples, apenas com a exclusão do glúten da dieta, parece ser uma condição de fácil manejo.

Entretanto, ao se aprofundar nos mecanismos da doença, em suas repercussões locais e sistêmicas, e em quantas questões ainda permanecem sem evidências suficientes, afloram dúvidas e incertezas, impulsionadoras da reflexão e da investigação sobre novas informações.

A constatação de que apenas a DIG não é a solução finalística e que o indivíduo com DC continua com processos metabólicos intrínsecos, proporcionados pelo próprio tratamento, que o colocam sob risco de aterogênese e doenças cardiovasculares precoces em sua adultícia, reforçam a necessidade da continuidade de pesquisas nesta área, cujos resultados possam nortear futuros tratamentos, sejam curativos ou preventivos, mas com impacto direto nestes fatores de risco.

Este trabalho, apesar das limitações comentadas, traz à comunidade científica e à comunidade de pacientes e de seus familiares, informações e alertas, que podem ser úteis, com certeza, para todos, em maior ou menor grau.

E finalmente, a expectativa que esta busca, que deve ser incessante, um dia seja muito mais restrita ou, quiçá, desnecessária.



## REFERÊNCIAS

- 1.Polanco I. Celiac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2008;47: Suppl 1:S3-6.
- 2.Markku Mäki M, Mustalahti K, Kokkonen J et al. Prevalence of Celiac Disease among Children in Finland. N Engl J Med 2003;348:2517-24.
- 3.Rubio-Tapa A, Murray JA. Celiac disease. Curr Opin Gastroenterol 2010;26:116–12.
- 4.Armstrong MJ, Robins GG, Howdle PD. Recent advances in coeliac disease. Curr Opin Gastroenterol 2009;25(2):100-9.
- 5.Hutchinson JM, Robins G, Howdle PD. Advances in coeliac disease. Curr Opin Gastroenterol 2008;24(2):129-34.
- 6.Craig D, Robins G, Howdle PD. Advances in celiac disease. Curr Opin Gastroenterol 2007;23(2):142-8.
- 7.Sabrá A, Bellanti J, Rodrigues G et al. Doença Celíaca: citocinas e histopatologia sugerem alergia alimentar mediada pela via Th1. Acta Scientiae Medica online 2008;1(2):80-9. Disponível em: <<http://www.readbag.com/actascientiaemedica-artigos-pdf-2-2008-abstract->>>>>>ciencias-clinicas-sabra-et-al>>. Acesso em 05/01/2015.
- 8.Kaser A, Pines A, Dotan I. Gut, inflammation and osteoporosis: basic and clinical concepts. Gut 2008;57:684–94.
- 9.Bergamaschi G, Markopoulos K, Albertini R et al. Anemia of chronic disease and defective erythropoietin production in patients with celiac disease. Haematologica 2008;93:1785–91.
- 10.Fabris M, Visentini D, De Re V et al. Elevated B cell-activating factor of the tumour necrosis factor family in coeliac disease. Scand J Gastroenterol 2007; 42:1434–9.

- 11.Björck S, Lindehammer SR, Fex M et al. Serum cytokine pattern in young children with screening detected coeliac disease. *Clin Exp Immunol* 2015; 179(2):230-5.
- 12.Moudgil KD, Choubey D. Cytokines in autoimmunity: role in induction, regulation, and treatment. *J Interferon Cytokine Res* 2011;31:695–703.
- 13.Hansson T, Dannaeus A, Klareskog L. Cytokine-producing cells in peripheral blood of children with coeliac disease secrete cytokines with a type 1 profile. *Clin Exp Immunol* 1999;116:246–50.
- 14.Lahat N, Shapiro S, Karban A et al. Cytokine profile in coeliac disease. *Scand J Immunol* 1999;49:441–6.
- 15.Lahdenpera A, Ludvigsson J, Falth-Magnusson K et al. The effect of gluten-free diet on Th1–Th2–Th3-associated intestinal immune responses in celiac disease. *Scand J Gastroenterol* 2011;46:538–49.
- 16.Lahat N, Shapiro S, Karban A, et al. Cytokine profile in coeliac disease. *Scand J Immunol* 1999;49:441–6.
- 17.Trinchieri G, Wysocka M, D’Andrea A et al. Natural killer cell stimulatory factor (NKSF) or interleukin-12 is a key regulator of immune response and inflammation. *Prog Growth Factor Res* 1992;4:355–68.
- 18.Nilsen EM, Lundin KE, Krajci P et al. Gluten specific HLA-DQ restricted T cells from coeliac mucosa produce cytokines with Th1 or Th0 profile dominated by interferon gamma. *Gut* 1995;37:766–76.
- 19.Salvati VM, MacDonald TT, Bajaj-Elliott M et al. Interleukin 18 and associated markers of T helper cell type 1 activity in coeliac disease. *Gut* 2002;50:186–90.
- 20.Manavalan JS, Hernandez L, Shah JG et al. Serum cytokine elevations in celiac disease: association with disease presentation. *Hum Immunol* 2010;71:50–7.

- 21.Hansson T, Dannaeus A, Klareskog L. Cytokine-producing cells in peripheral blood of children with coeliac disease secrete cytokines with a type 1 profile. *Clin Exp Immunol* 1999;116:246–50.
- 22.Romaldini CC, Barbieri D, Okay TS et al. Serum soluble interleukin-2 receptor, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha levels in children with celiac disease: response to treatment. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002;35:513–7.
- 23.Lettesjo H, Hansson T, Bergqvist A et al. Enhanced interleukin-18 levels in the peripheral blood of children with coeliac disease. *Clin Exp Immunol* 2005;139:138–43.
- 24.Veenbergen S, Samsom JN. Maintenance of small intestinal and colonic tolerance by IL-10-producing regulatory T cell subsets. *Curr Opin Immunol* 2012;24:269–76.
- 25.Manavalan JS, HernandezL, Shah JG et al. Serum cytokine elevations in celiac disease: association with disease presentation. *Hum Immunol* 2010;71:50–7.
- 26.Bansal AS, Bruce J, Thomson A et al. Serum levels of sCD23, interleukin-10 and interferon-gamma in patients with coeliac disease. *J Gastroenterol Hepatol* 1997;12:685–9.
- 27.Hansson T, Dannaeus A, Klareskog L. Cytokine-producing cells in peripheral blood of children with coeliac disease secrete cytokines with a type 1 profile. *Clin Exp Immunol* 1999;116:246–50.
- 28.Cataldo F, Lio D, Marino V et al. Working Group of the SIGEP, Working Group of ‘Club del Tenue’. Plasma cytokine profiles in patients with celiac disease and selective IgA deficiency. *Pediatr Allergy Immunol* 2003;14:320–4.
- 29.Almeida PL, Gandolfi L, Modelli IC et al. Prevalence of celiac disease among first degree relatives of Brazilian celiac patients. *Arq Gastroenterol* 2008;45(1):69-72.

- 30.Lagerqvist C, Dahlbom I, Hansson T et al. Antigliadin immunoglobulin A best in finding celiac disease in children younger than 18 months of age. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008;47(4):428-35.
- 31.Fasano A, Araya M, Bhatnagar S et al. Federation of International Societies of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition consensus report on celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008;47(2):214-9.
- 32.Hill ID, Dirks MH, Liptak GS et al. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005;40(1):1-19.
- 33.NIH Consensus Development Conference on Celiac Disease. NIH Consens State Sci Statements 2004;21(1):1-23.
- 34.Rostom, A, Murray JA, Kagnoff MF. American Gastroenterological Association (AGA) Institute: technical review on the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology* 2006;131(6):69-72.
- 35.Husby S, Koletz S, Korponay-Szabo I et al. ESPGHAN Guidelines for Diagnosis of Coeliac Disease. ESPGHAN Working Group on Coeliac Disease Diagnosis, on behalf of the ESPGHAN Gastroenterology Committee. *J Ped Gastroenterol Nutr*;2012;54:136–160.
- 36.Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP et al. American College of Gastroenterology. ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2013;108(5):656-76.
- 37.Barera G, Mora S, Brambilla P et al. Body composition in children with celiac disease and the effects of a gluten-free diet: a prospective case-control study. *Am J Clin Nutr* 2000;72(1):71-5.

38. Carbone MC, Pitzalis G, Ferri Met al. Body composition in coeliac disease adolescents on a gluten-free diet: a longitudinal study. *Acta Diabetol* 2003;40 Suppl 1:S171-3.
39. Bardella MT, Fredella C, Prampolini L et al. Body composition and dietary intakes in adult celiac disease patients consuming a strict gluten-free diet. *Am J Clin Nutr* 2000;72(4):937-9.
40. Rosenthal E, Hoffman R, Aviram M et al. Serum lipoprotein profile in children with celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990;11(1):58-62.
41. Ministério da Saúde. DATASUS. Indicadores de Saúde. Disponível em: <<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=02>>. Acesso em 05/01/2015.
42. Pitocco D, Giubilato S, Martini Fet al. Combined atherogenic effects of celiac disease and type 1 diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 2011;217(2):531-5.
43. Green PH, Cellier C. Celiac disease. *N Engl J Med* 2007;357(17):1731-43.
44. Fasano A. Systemic autoimmune disorders in celiac disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2006;22(6):674-9.
45. Smyth DJ, Plagnol V, Walker N Met al. Shared and distinct genetic variants in type 1 diabetes and celiac disease. *N Engl J Med* 2008;359(26):2767-77.
46. Freemark M, Levitsky LL. Screening for celiac disease in children with type 1 diabetes: two views of the controversy. *Diabetes Care* 2003;26:1932-9.
47. Bogalusa Heart Study. Cardiovascular disease risk factor variables at the preschool age. *Circulation* 1978;57(3):603-12.
48. McGill HC Jr, McMahan CA. Determinants of atherosclerosis in the young. Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. *Am J Cardiol* 1998;82(10B):30-36.



49.Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR et al. Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose. Sociedade Brasileira de Cardiologia.Arquivos Brasileiros de Cardiologia.Disponível em: <[http://www.sbpcc.org.br/upload/conteudo/V\\_Diretriz\\_Brasileira\\_de\\_Dislipidemias.pdf](http://www.sbpcc.org.br/upload/conteudo/V_Diretriz_Brasileira_de_Dislipidemias.pdf)>. Acesso em 05/012015.

50.Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III).Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. JAMA 2001;285(19):2486-97.

51.Korcarz CE, Hirsch AT, Bruce C et al. Carotid intima-media thickness testing by non-sonographer clinicians: the office practice assessment of carotid atherosclerosis study. J Am Soc Echocardiogr 2008;21(2):117-22.

52.Gepner AD, Keevil JG, Wyman RA et al. Use of carotid intima-media thickness and vascular age to modify cardiovascular risk prediction. J Am Soc Echocardiogr 2006;9(9):1170-4.

53.Groot E, Leuven SI, Duivenvoorden R et al. Measurement of carotid intima-media thickness to assess progression and regression of atherosclerosis. Nat Clin Pract Cardiovasc Med 2008;5(5):280-8.

54.Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT et al.American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statementfrom the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. J Am Soc Echocardiogr 2008; 21(2):93-111.

55.Nguyen-Thanh HT, Benzaquen BS. Screening for subclinical coronary artery disease measuring carotid intima media thickness. Am J Cardiol 2009; 104(10):1383-8.

- 56.Silva ML, Nassar SM, Pires MMS et al. Biventricular diastolic function assessed by Doppler echocardiogram in children vertically infected with human immunodeficiency vírus. J Pediatr (Rio J.) 2014; 90(4):403-7.
- 57.Romero R, Espinoza E, Silva Met al. Fetal cardiac dysfunction in preterm premature rupture of membranes. J Matern Fetal Neonatal Med 2004;16(3):146-157.
- 58.Choong CY. Left ventricle V: diastolic function – its principles and evaluation. In Weyman AE, eds. Principles and Practice of Echocardiography. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994:721–80.
- 59.Fujii J, Yazaki Y, Sawada H et al. Noninvasive assessment of left and right ventricular filling in myocardial infarction with a two-dimensional Doppler echocardiographic method. J Am Coll Cardiol 1985;5:1155–60.
- 60.Isobe M, Yazaki Y, Takaku F et al. Right ventricular filling detected by pulsed Doppler echocardiography during the convalescent stage of inferior wall acute myocardial infarction.Am J Cardiol 1987;59:1245–50.
- 61.Wind BE, Snider AR, Buda AJ et al. Pulsed Doppler assessment of left ventricular diastolic filling in coronary artery disease before and immediately after coronary angioplasty. Am J Cardiol 1987;59:1041–6.
- 62.Fernandes VR, Silva ML (co-orientador), Coutinho MSA(orientador) . Índice de desempenho miócardio (índice de TEI): valores em uma amostra de crianças e adolescentes sem cardiopatia e em crianças com miocardiopatia dilatada (dissertação). Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2005. Disponível em:<<http://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/102096>>.Acesso em 05/01/2015.
- 63.Dogan M, Peker E, Cagan E et al. Stroke and dilated cardiomyopathy associated with celiac disease. World J Gastroenterol 2010;16(18):2302-4.

64. West J, Logan RF, Card TR et al. Risk of vascular disease in adults with diagnosed coeliac disease: a population-based study. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20(1):73-9.

65. Lopez L, Colan SD, Frommelt PC et al. American Society of Echocardiography. Recomendações para os métodos de quantificação durante a realização do ecocardiograma pediátrico: Relatório escrito pelo grupo da Sociedade Americana de Ecocardiografia e do Conselho em Cardiopatias Congênitas. Disponível em: <<http://asecho.org/wordpress/wp-content/uploads/2014/01/PedQuantification-Portuguese-5.pdf>>. Acesso em 05/01/2015.

66. World Health Organization. Child growth standards: Body Mass Index (BMI) z-scores charts according to age and sex. Disponível em: [http://www.who.int/childgrowth/standards/Technical\\_report.pdf](http://www.who.int/childgrowth/standards/Technical_report.pdf). Acesso em 05/01/2015.

67. Cui W, Roberson DA, Chen Z et al. Systolic and Diastolic Time Intervals Measured from Doppler Tissue Imaging: Normal Values and Z-score, Tables, and Effects of Age, Heart Rate, and Body Surface Area. *J Am Soc Echocardiogr* 2008;21(4):361-70.

68. Rumeau P, Acar P, Paranon S et al. Evaluation of left ventricular diastolic function in children by doppler tissue imaging. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2007;(5):405-10.

69. Kliegman RM, Bonita MD, Stanton BMD et al. The anemias. In: *Nelson Textbook of Pediatrics*. 19th ed. W.B. Saunders; 2011.

70. Riggs TW, Snider AR. Respiratory influence on right and left ventricular diastolic function in normal children. *Am J Cardiol* 1989;63:858-61.

71. Grenadier E, Lima CO, Allen HD et al. Normal intracardiac and great vessel Doppler flow velocities in infants and children. *J Am Coll Cardiol* 1984;4:343-50.

- 72.Bu'Lock FA, Mott MG, Martin RP. Left ventricular diastolic function in children measured by Doppler echocardiography: normal values and relation with growth. *Br Heart J* 1995;73:334-39.
- 73.Vermilion RP, Snider AR, Meliones JN et al. Pulsed Doppler evaluation of right ventricular diastolic function in children with pulmonary valve stenosis before and after balloon valvuloplasty. *Am J Cardiol* 1990;66:79-84.
- 74.Henry WL, Ware J, Gardin JM et al. Echocardiographic measurements in normal subjects: growth related changes that occur between infancy and early adulthood. *Circulation* 1978;57:278-85.
- 75.Rogeï CLL, Silverman NH, Hart PA et al. Cardiac Structure Growth Pattern Determined by Echocardiography. *Circulation* 1978;57(2):285-90.
- 76.Cui W, Roberson DA, Chen Z et al. Systolic and Diastolic Time Intervals Measured from Doppler Tissue Imaging: Normal Values and Z-score, Tables, and Effects of Age, Heart Rate, and Body Surface Area. *J Am Soc Echocardiogr* 2008;21(4):361-70.
- 77.Doyon A, Kracht D, Bayazit AK et al. Carotid Artery Intima-Media Thickness and Distensibility in Children and Adolescents: Reference values and Role of Body Dimensions. *Hypertension*. 2013;62:550-556.
- 78.Wu T, Hsuan-Chang Kuo, Tain Y et al. Common carotid artery intima-media thickness is useful for diagnosis of the acute stage of Kawasaki disease. *BMC Pediatrics* 2014;14:98,1-6.
- 79.Johnson PA, Wichern DW. IN: Applied Multivariate Statistical Analysis. 6<sup>th</sup> ed. Prentice Hall; 2012.
- 80.Rybak A, Cukrowska B, Socha J et al. Long Term Follow Up of Celiac Disease-Is Atherosclerosis a Problem? *Nutrients* 2014;6(7):2718-29.
- 81.Qiao SW, Iversen R, Ráki M et al. The adaptive immune response in celiac disease. *Semin Immunopathol* 2012;34(4):523-40.

82.Lammi A, ArikoskiP,Vaarala O et al.Increased peripheral blood CD<sub>4</sub><sup>+</sup> T cell responses to deamidated but not to native gliadin in children with coeliac disease.Clin Exp Immunol 2012;168(2):207–14.

83.Cybulsky,MI, Jr Gimbrone MA. Endothelial expression of a mononuclear leukocyteadhesion molecule during atherogenesis. Science 1991;251(4995):788–91.

84.ProfumoE, ButtariB, TostiME et al. Plaque-infiltrating T lymphocytes in patients with carotid atherosclerosis:An insight into the cellular mechanisms associated to plaque destabilization. J Cardiovasc Surg 2013;54(3):349–57.

85.Erbel C, Dengler TJ, Wangler Set al. Expression of IL-17Ain human atherosclerotic lesions is associated with increased inflammation and plaque vulnerability.Basic Res Cardiol2011;106(1):125–34.

86.Kverka M, Tlaskalova-Hogenova H. Two faces of microbiota in inflammatory and autoimmune diseases:Triggers and drugs. APMIS 2013;121(5):403–21.

87.Karlsson F, Tremaroli V, Nielsen J,Bäckhed F. Assessing the Human Gut Microbiota in Metabolic Diseases. Diabetes 2013;62(10):3341–49.

88.HolvoetP, MertensA,Verhamme Pet al. Circulating oxidized LDL is a useful marker for identifying patients with coronary artery disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol2001;21(5):844–8.

89.CiccocioppoR,SabatinoA,CorazzaGR.The imune recognition of gluten in coeliac disease. Clin Exp Immunol 2005;140(3):408–16.

90.Cheng J, Kalliomäki M, Heilig HGHJet al. Duodenal microbiota composition and mucosal homeostasis in pediatric celiac disease. BMC Gastroenterol 2013;13:113

91.Sakuragi S, Abhayaratna K, Gravenmaker KJ et al. Influence of adiposity and physical activity on arterial stiffness in healthy children: The lifestyle of our kids study. Hypertension 2009;53:611–16.

- 92.Brinjikji TL, Christensen W,Brogan WKN et al.Morbidity and mortality among older individuals with undiagnosed celiac disease. *Gastroenterology* 2010;139(3):763–69.
- 93.Brar P, Kwon GY, Holleran S et al.Change in lipid profile in celiac disease:Beneficial effect of gluten-free diet.*AmJMed*2006;119(9):786–90.
- 94.Daya HA, Lebowhl B,Smukalla S et al. Utilizing HDL Levels to Improve Detection of Celiac Disease in Patients With Iron Deficiency Anemia. *Am J Gastroenterol* 2014;109:769-70.
- 95.Elburg RM,Uil JJ,Mulder CJJ et al..Intestinal permeability in patients with coeliac disease and relatives of patients with coeliac disease.*Gut* 1993;34(3):354–57.
- 96.DeMeo MT,Mutlu EA,Keshavarzian A et al. The small intestine and nutrition:intestinal permeation and gastrointestinal disease.*J Clin Gastroenterol* 2002;34(4):385–396.
- 97.Farrell RJ,Kelly CP. Celiac sprue. *N Engl J Med* 2002;346(3):180-88.
- 98.Curione M, Barbato M, Viola F et al. Idiopathic dilated cardiomyopathy associated with coeliac disease:the effect of a gluten-free diet on cardiac performance.*Dig Liver Dis* 2002;34(12):866–69.
- 99.Vinereanu D,Ionescu AA,Fraser AG. Assessment of left ventricular long axis contraction can detect early myocardial dysfunction in asymptomatic patients with severe aortic regurgitation.*Heart* 2001;85(1):30-36.
- 100.Tassan-Mangina S, Brasselet C, Nazeyrollas P et al. Value of pulsed Doppler tissue imaging for early detection of myocardial dysfunction with anthracyclines.*Arch Mal Coeur Vaiss* 2002;95(4):263-8.
- 101.Flachskampf FA,Breithardt OA,Daniel WG. Diagnostic value of tissue Doppler parameters in the early diagnosis of cardiomyopathies.*Herz*2007;32(2):89-96.

102.Dandel M, Hummel M, Müller J et al. Reliability of tissue Doppler wall motion monitoring after heart transplantation for replacement of invasive routine screenings by optimally timed cardiac biopsies and catheterizations. *Circulation* 2001;104(1):184–191.

103.Sari C, Bayram NA, Doğan FE et al. The Evaluation of Endothelial Functions in Patients with Celiac Disease. *Echocardiography* 2012;29(4):471-77.

## APÊNDICES

### **Apêndice A - Termo de consentimento livre e esclarecido para as crianças e adolescentes com doença celíaca**

**Título do Trabalho:** FATORES DE RISCO PARA DOENÇA CARDIOVASCULAR ATERTROMBÓTICA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES PORTADORES DE DOENÇA CELÍACA EM TRATAMENTO

**Senhores Pais:**

*Por favor, leiam atentamente as instruções abaixo antes de decidir-se o(a) Senhor (a) concorda que seu (sua) filho (a) participe do presente estudo. Se possível, discuta esse assunto com ele (a) para que seja uma decisão em conjunto.*

Eu, \_\_\_\_\_, confirmo que Mauricio Laerte

Silva discutiu comigo este estudo. Eu compreendi que:

1. O presente estudo é parte do trabalho de tese do pesquisador Mauricio Laerte Silva.
2. O objetivo deste estudo é avaliar, por meio de exames de laboratório e de ultrassom da artéria carótida do lado direito, e do coração, se meu (minha) filho (a) apresenta alguma alteração que apresente risco para desenvolver, quando adulto, alguma doença do aparelho circulatório, principalmente infarto do miocárdio e derrame cerebral.
3. Minha participação e do meu (minha) filho (a) colaborando neste trabalho é muito importante, porque permitirá identificar precocemente fatores que o (a) coloca sob risco de desenvolver doenças graves no futuro. A participação do(a) meu (minha) filho(a) na pesquisa implica em eu responder a algumas perguntas sobre a doença celíaca, ou sobre o estado de saúde de nossos familiares e o pesquisador irá examiná-lo (a) e realizar exame utilizando ultrassonografia. Um técnico habilitado fará a coleta de sangue, de acordo com as normas sanitárias e em quantidade suficiente apenas para realização dos exames previstos na tese. Fui esclarecido de que os riscos e desconfortos relacionados à pesquisa são os seguintes: permanecer deitado por um período aproximado de 30 minutos para a realização do ultrassom, e punção de uma veia superficial, no membro superior direito ou esquerdo, para a coleta de sangue.
4. O Hospital Infantil Joana de Gusmão já deu a permissão por escrito para que esta pesquisa seja realizada.



5. Minha participação e de meu (minha) filho (a), ou não, no estudo não implicará em nenhum benefício ou restrição de qualquer ordem para meu (minha) filho (a) ou para mim.

6. Eu também sou livre para não participar desta pesquisa se não quiser. Isto não implicará em quaisquer prejuízos pessoais ou no atendimento de meu (minha) filho (a). Além disto, estou ciente de que em qualquer momento, ou por qualquer motivo, eu ou minha família podemos desistir de participar da pesquisa.

7. Estou ciente de que o meu nome e o do meu filho não serão divulgados e que somente as pessoas diretamente relacionadas à pesquisa terão acesso aos dados e que todas as informações serão mantidas em segredo e somente serão utilizados para este estudo.

8. Estou ciente de que todas as despesas de deslocamento até os locais onde serão realizados os procedimentos (consulta, coleta de sangue e ultrassom) serão de minha responsabilidade.

9. Se eu tiver alguma dúvida a respeito da pesquisa, eu posso entrar em contato com Mauricio Laerte Silvapelo telefone 48-9972-3439, ou 48-3228-3518.

10. Eu concordo em participar deste estudo.

Nome e assinatura de participante maior de 14 anos:

Nome e assinatura do responsável legal pela criança:

Entrevistador:

Data:

**Em caso de dúvidas relacionadas aos procedimentos éticos da pesquisa, favor entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, do Hospital Infantil Joana de Gusmão, pelo telefone (48) 32519092.**

**Apêndice B** -Termo de consentimento livre e esclarecido para as crianças e adolescentes do grupo controle

**Título do Trabalho:** FATORES DE RISCO PARA DOENÇA CARDIOVASCULAR ATERTROMBÓTICA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES PORTADORES DE DOENÇA CELÍACA EM TRATAMENTO

**Senhores Pais:**

*Por favor, leiam atentamente as instruções abaixo antes de decidir-se o(a) Senhor (a) concorda que seu (sua) filho (a) participe do presente estudo. Se possível, discuta esse assunto com ele (a) para que seja uma decisão em conjunto.*

Eu, \_\_\_\_\_, confirmo que Mauricio Laerte Silva discutiu comigo este estudo. Eu compreendi que:

1.O presente estudo é parte do trabalho de tese do pesquisador Mauricio Laerte Silva.

2. O objetivo deste estudo é avaliar, por meio de exames de laboratório e de ultrassom da artéria carótida do lado direito,e do coração, se meu (minha) filho (a) apresenta alguma alteração que apresente risco para desenvolver, quando adulto, alguma doença do aparelho circulatório, principalmente infarto do miocárdio e derrame cerebral, ou para compará-lo (a) com outras crianças ou adolescentes que apresentam uma doença, chamada de doença celíaca, ou intolerância ao glúten, que aumenta a possibilidade de haver estes fatores de risco.

3. Minha participação e do meu (minha) filho (a) colaborando neste trabalho é muito importante porque permitirá identificar precocemente fatores que o (a) coloca sob risco de desenvolver doenças graves no futuro, A participação do(a) meu (minha) filho(a) na pesquisa implica em eu responder a algumas perguntas sobre o seu estado de saúde, bem como de nossos familiares e o pesquisador irá examiná-lo (a) e realizar exame utilizando ultrassonografia. Um técnico habilitado fará a coleta de sangue, de acordo com as normas sanitárias e em quantidade suficiente apenas para realização dos exames previstos na tese. Fui esclarecido de que os riscos e desconfortos relacionados à pesquisa são os seguintes: permanecer deitado por um período aproximado de 30 minutos para a realização do ultrassom, e punção de uma veia superficial, no membro superior direito ou esquerdo, para a coleta de sangue.

4. O Hospital Infantil Joana de Gusmão já deu a permissão por escrito

para que esta pesquisa seja realizada.

5. Minha participação e de meu (minha) filho (a), ou não, no estudo não implicará em nenhum benefício ou restrição de qualquer ordem para meu (minha) filho (a) ou para mim.

6. Eu também sou livre para não participar desta pesquisa se não quiser. Isto não implicará em quaisquer prejuízos pessoais ou no atendimento de meu (minha) filho (a). Além disto, estou ciente de que em qualquer momento, ou por qualquer motivo, eu ou minha família podemos desistir de participar da pesquisa.

7. Estou ciente de que o meu nome e o do meu filho não serão divulgados e que somente as pessoas diretamente relacionadas à pesquisa terão acesso aos dados e que todas as informações serão mantidas em segredo e somente serão utilizados para este estudo.

8. Estou ciente de que todas as despesas de deslocamento até os locais onde serão realizados os procedimentos (consulta, coleta de sangue e ultrassom) serão de minha responsabilidade.

9. Se eu tiver alguma dúvida a respeito da pesquisa, eu posso entrar em contato com Mauricio Laerte Silvapelo telefone 48-9972-3439, ou 48-3228-3518.

Eu concordo em participar deste estudo.

Nome e assinatura de participante maior de 14 anos:

Nome e assinatura do responsável legal pela criança:

Entrevistador:

Data:

**Em caso de dúvidas relacionadas aos procedimentos éticos da pesquisa, favor entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, do Hospital Infantil Joana de Gusmão, pelo telefone (48) 32519092.**

## **Apêndice C - ASSENTIMENTO INFORMADO GRUPO COM DOENÇA CELÍACA**

Assentimento informado para participar da pesquisa: FATORES DE RISCO PARA DOENÇA CARDIOVASCULAR ATERTOTROMBÓTICA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES PORTADORES DE DOENÇA CELÍACA EM TRATAMENTO

Nome

dacriança/adolescente:.....

Meu nome é Mauricio Laerte Silva, especialista em coração de crianças e adolescentes, e sou responsável por um trabalho que está estudando se alguma criança ou adolescente, que têm a doença celíaca, apresentam alguma alteração que possa fazer com que ele ou ela possam ter alguma doença do coração ou derrame no cérebro, quando forem adultos.

Eu já conversei com seus pais e eles concordaram em sua participação, mas se você não quiser, não precisa participar.

Este estudo será feito por meio de exames de sangue e de ultrassom do coração e de uma artéria do pescoço, tentando encontrar alterações que possam nos dizer se haverá alguma possibilidade maior de você apresentar alguma doença do coração ou do cérebro quando for adulto. Se for encontrada alguma alteração, você poderá ser tratado e não terá mais este risco.

Você foi escolhido para participar deste estudo porque está em tratamento para a doença celíaca, que pode aumentar a chance de você apresentar alguma alteração, que só poderá ser conhecida por meio dos exames que estaremos realizando.

Sua participação no estudo será voluntária, ou seja, você só participará se quiser. Também poderá desistir de participar em qualquer tempo, sem qualquer problema. Também o fato de se negar a participar não vai mudar nada no tratamento que você já vem recebendo.

Para a realização dos exames que comentamos anteriormente será necessário coletar sangue em um dos braços, como se faz em qualquer outro exame de sangue. Também será realizado um exame chamado de ultrassom, que é indolor, apenas utilizando um aparelho pequeno, como se fosse uma caneta mais grossa, que desliza sobre o peito e sobre o pescoço, e as imagens aparecem em uma tela de computador. Para facilitar o deslizamento deste aparelho, coloca-se uma pequena porção de gel nestes locais.

Para que os exames sejam feitos com o mínimo de desconforto e dor, eles serão executados por pessoas experientes e que estão acostumadas a fazê-los em crianças e adolescentes, com muita prática e cuidado.

Como são exames rápidos, provavelmente você não perderá sua aulas e poderá voltar a fazer suas atividades físicas e exercícios de imediato. Caso necessário, será fornecido uma declaração de seu comparecimento ao local dos exames, para justificar sua ausência na escola.

Se você concordar em participar deste estudo, além de sabermos se você possui algum exame alterado, também saberemos se outras crianças ou adolescentes, como você possuem, ou não, estas alterações, para que possamos oferecer a eles também um tratamento para evitar que possam adoecer no futuro, quando adultos.

Seus pais já estão cientes de que não haverá qualquer tipo de pagamento ou outra forma de recompensa, por você estar participando do estudo.

Outra coisa importante é que ninguém além de mim e de colegas que esteja participando do estudo, saberão sobre os resultados dos exames, sobre outras informações suas e nem seu nome. Tudo será mantido em segredo.

Quando o estudo terminar, os resultados serão comunicados a você e a seus pais, e também serão publicados em uma revista médica, ou livro, mas sem revelar quem participou da pesquisa.

Novamente reforço a questão de ser uma participação voluntária, ou seja, você poderá ou não participar, e ninguém ficará bravo ou desapontado com você se você disser não. A escolha é sua. Você pode pensar nisto e falar depois se você quiser. Você pode dizer sim agora e mudar de idéia depois e tudo continuará bem.

Se você quiser, poderá conversar comigo novamente (Mauricio) ou com seus pais, tios, amigos ou professores, com quem também poderei conversar para dar os mesmos esclarecimentos que lhe dei, para então depois você decidir.

Eu entendi que a pesquisa é sobre exames de sangue e de ultrassom para saber se possuo alguma alteração que agora não me traz problemas, mas que poderei ter alguma doença mais tarde, quando for adulto(a), se não for tratado da forma correta, já a partir da minha idade

Assinatura da criança/adolescente:

.....  
.....

Nome e assinatura dos pais/responsáveis:

.....  
.....

Assinatura do pesquisador:

.....

Data: ...../...../.....

**Em caso de dúvidas relacionadas aos procedimentos éticos da pesquisa, favor entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, do Hospital Infantil Joana de Gusmão, pelo telefone (48) 32519092.**

**Apêndice D - ASSENTIMENTO INFORMADO GRUPO CONTROLE**  
 Assentimento informado para participar da pesquisa: FATORES DE  
 RISCO PARA DOENÇA CARDIOVASCULAR  
 ATERTOTROMBÓTICA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES  
 PORTADORES DE DOENÇA CELÍACA EM TRATAMENTO

Nome da criança/adolescente:

.....

Meu nome é Mauricio Laerte Silva, especialista em coração de crianças e adolescentes, e sou responsável por um trabalho que está estudando se algumas criança ou adolescentes, que têm a doença celíaca (que não podem comer glúten), apresentam alguma alteração que possa fazer com que ele ou ela possam ter alguma doença do coração ou derrame no cérebro, quando forem adultos.

Eu já conversei com seus pais e eles concordaram em sua participação, mas se você não quiser, não precisa participar.

Este estudo será feito por meio de exames de sangue e de ultrassom do coração e de uma artéria do pescoço, tentando encontrar alterações que possam nos dizer se haverá alguma possibilidade maior de você apresentar alguma doença do coração ou do cérebro quando for adulto. Se for encontrada alguma alteração, você poderá ser tratado e não terá mais este risco.

Sua participação no estudo será voluntária, ou seja, você só participará se quiser. Também poderá desistir de participar em qualquer tempo, sem qualquer problema.

Para a realização dos exames que comentamos anteriormente será necessário coletar sangue em um dos braços, como se faz em qualquer outro exame de sangue. Também será realizado um exame chamado de ultrassom, que é indolor, apenas utilizando um aparelho pequeno, como se fosse uma caneta mais grossa, que desliza sobre o peito e sobre o pescoço, e as imagens aparecem em uma tela de computador. Para facilitar o deslizamento deste aparelho, coloca-se uma pequena porção de gel nestes locais.

Para que os exames sejam feitos com o mínimo de desconforto e de dor, eles serão executados por pessoas experientes e que estão acostumadas a fazê-los em crianças e adolescentes, com muita prática e cuidado.

Como são exames rápidos, provavelmente você não perderá sua aulas e poderá voltar a fazer suas atividades físicas e exercícios de imediato. Caso necessário, será fornecido uma declaração de seu



comparecimento ao local dos exames, para justificar sua ausência na escola.

Se você concordar em participar deste estudo, além de sabermos se você possui algum exame alterado, também saberemos se outras crianças ou adolescentes, como você possuem, ou não, estas alterações, para que possamos oferecer a eles também um tratamento para evitar que possam adoecer no futuro, quando adultos.

Seus pais já estão cientes de que não haverá qualquer tipo de pagamento ou outra forma de recompensa, por você estar participando do estudo.

Outra coisa importante é que ninguém além de mim e de colegas que esteja participando do estudo, saberão sobre os resultados dos exames, sobre outras informações suas e nem seu nome. Tudo será mantido em segredo.

Quando o estudo terminar, os resultados serão comunicados a você e a seus pais, e também serão publicados em uma revista médica, ou livro, mas sem revelar quem participou da pesquisa.

Novamente reforço a questão de ser uma participação voluntária, ou seja, você poderá ou não participar, e ninguém ficará bravo ou desapontado com você se você disser não. A escolha é sua. Você pode pensar nisto e falar depois se você quiser. Você pode dizer sim agora e mudar de idéia depois e tudo continuará bem.

Se você quiser, poderá conversar comigo novamente (Maurício) ou com seus pais, tios, amigos ou professores, com quem também poderei conversar para dar os mesmos esclarecimentos que lhe dei, para então depois você decidir.

Eu entendi que a pesquisa é sobre exames de sangue e de ultrassom para saber se possuo alguma alteração que agora não me traz problemas, mas que poderei ter alguma doença mais tarde, quando for adulto(a), se não for tratado da forma correta, já a partir da minha idade

Assinatura da criança/adolescente:

.....

Nome e assinatura dos pais/responsáveis:

.....

.....

Assinatura \_\_\_\_\_ do pesquisador:

Data: ...../...../.....

**Em caso de dúvidas relacionadas aos procedimentos éticos da pesquisa, favor entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, do Hospital Infantil Joana de Gusmão, pelo telefone (48) 32519092.**

**Apêndice E** – Formulário de pesquisa (informações dos participantes da pesquisa e resultados ndas variávies coletadas).

Código: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**I.**

1. N°. do Registro \_\_\_\_\_

2. \_\_\_\_\_ Município \_\_\_\_\_ de  
origem: \_\_\_\_\_

3. UF: \_\_\_\_\_

4. Sexo:

( ) Masculino

( ) Feminino

5. Data de Nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

6. Data do US carótida e ecocardiograma: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

7. Data dos exames laboratoriais: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

8. Tempo do diagnóstico (dieta isenta de glúten) \_\_\_\_\_

**II. História Progressiva:**

**OBS.:**

**III. Aderência à dieta**

( ) total ( ) parcial ( ) nenhuma

**IV. História Familiar:**

( ) Doença celíaca \_\_\_\_\_ Grau de  
parentesco \_\_\_\_\_

( ) HAS

( ) AVE

( ) DM

( ) Hipercolesterolemia

( ) Doença Coronariana. Idade: \_\_\_\_\_ (anos)

( ) Hipertrigliceridemia

( ) Doença Auto-Imune

( ) Alergias/Atopias:

( ) Outra: \_\_\_\_\_

**V. Exame Físico:****VI. Avaliação nutricional:**

Peso (Kg):

Estatura (m):

IMC:

**VII. Exames Laboratoriais:**

Colesterol total

LDL-c \_\_\_\_\_

HDL-c \_\_\_\_\_

não-HDL-c \_\_\_\_\_

Triglicerídeos \_\_\_\_\_

TSH \_\_\_\_\_

PCR-as \_\_\_\_\_

Glicemia jejum \_\_\_\_\_

Anticorpo antigliadina IgA \_\_\_\_\_

IL-1 $\beta$  \_\_\_\_\_

IL-1ra \_\_\_\_\_

IL-2 \_\_\_\_\_

IL-4 \_\_\_\_\_

IL-6 \_\_\_\_\_

IL-10 \_\_\_\_\_

IL-17 \_\_\_\_\_

IFN- $\gamma$  \_\_\_\_\_TNF- $\alpha$  \_\_\_\_\_**VIII. US de carótida****EMIC comum direita média:** \_\_\_\_\_**IX. Ecocardiograma****Valva mitral:**

Onda Amédia \_\_\_\_\_ cm/s

Onda E média \_\_\_\_\_ cm/s

Relação E/A (das médias): \_\_\_\_\_

**Fração encurtamento (FEnc)**

Diâmetro diastólico VEMédia: \_\_\_\_\_ mm

Diâmetro sistólico VEMédia: \_\_\_\_\_ mm

Delta D médio = média DdVE- média DsVE)/ média DdVE=

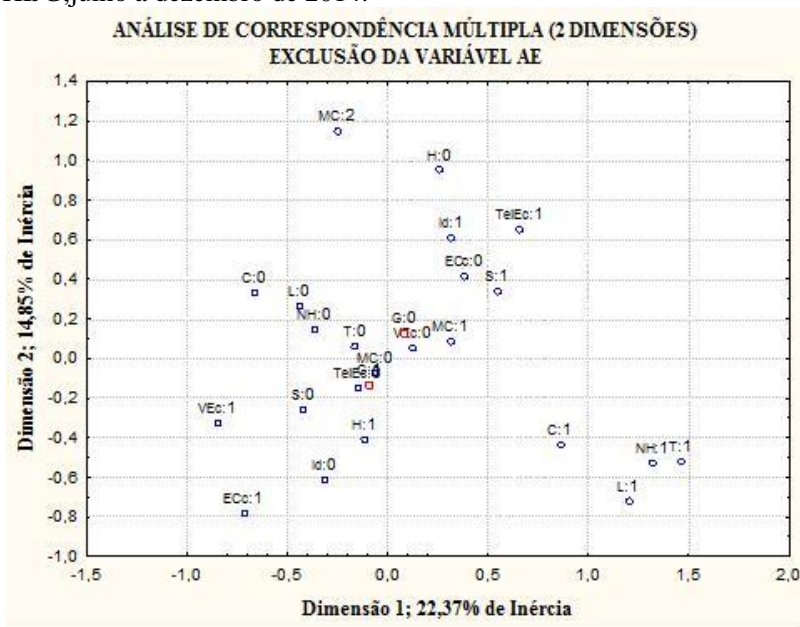
\_\_\_\_\_  
AE média\_\_\_\_\_

**Doppler tecidual**

Onda e' média\_\_\_\_\_cm/s

Relação E/e' mitral= média E mitral/média e' mitral=\_\_\_\_\_

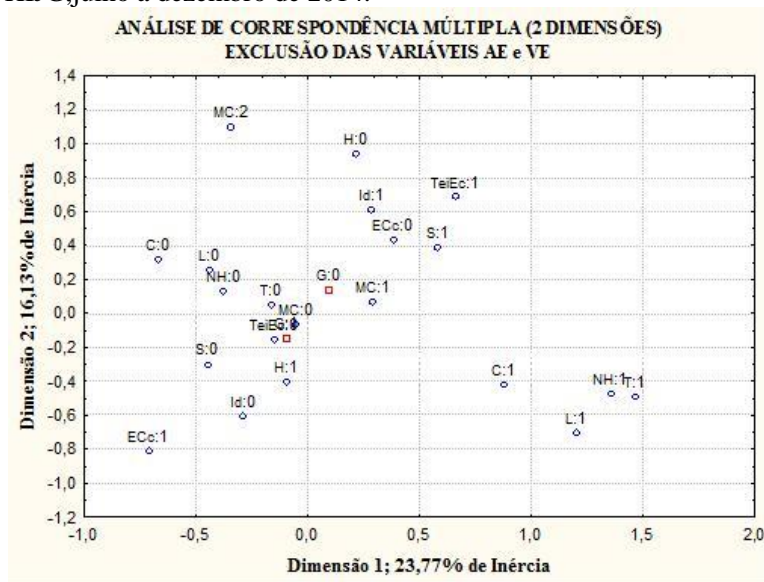
**Apêndice F-** Figura 13 - ACM com exclusão da variável AE. HIJG, julho a dezembro de 2014.



Fonte: produzido pelo autor.

G:0-grupo controle; G:1-grupo DC; S:0-sexo feminino; S:1-sexo masculino; Id:0-idade menor que 10 anos; Id:1-idade igual ou maior que 10 anos; MC:0-eutrofia; MC:1-sobrepeso; MC:2-magreza; EC:0-EMIC normal; EC:1-EMIC aumentada; C:0-colesterol total normal; C:1-colesterol total aumentado; L:0-LDL-c normal; L:1-LDL-c aumentado; H:0-HDL-c normal; H:1-HD-c baixo; NH:0-nãoHDL-c normal; NH:1-não HDL-c; T:0-TG normal; T:1-TG aumentado; VEc:0-DdVE normal; VEc:1-DdVE; Tei:0-TeiVE normal; Tei:1-TeiVE aumentado.

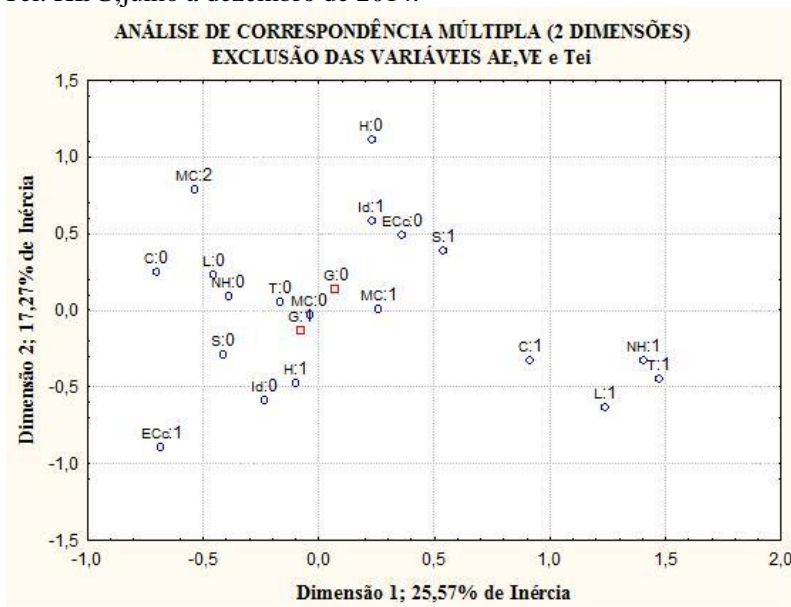
**Apêndice G-** Figura 14 - ACM com exclusão das variáveis AE e VE. HIJG, julho a dezembro de 2014.



Fonte: produzido pelo autor.

G:0-grupo controle; G:1-grupo DC; S:0-sexo feminino; S:1-sexo masculino; Id:0-idade menor que 10 anos; Id:1-idade igual ou maior que 10 anos; MC:0-eutrofia; MC:1-sobrepeso; MC:2-magreza; EC:0-EMIC normal; EC:1-EMIC aumentada; C:0-colesterol total normal; C:1-colesterol total aumentado; L:0-LDL-c normal; L:1-LDL-c aumentado; H:0-HDL-c normal; H:1-HD-c baixo; NH:0-nãoHDL-c normal; NH:1-não HDL-c; T:0-TG normal; T:1-TG aumentado; Tei:0-TeiVE normal; Tei:1-TeiVE aumentado.

**Apêndice H-** Figura 15 - ACM com exclusão das variáveis AE, VE e Tei. HIJG, julho a dezembro de 2014.

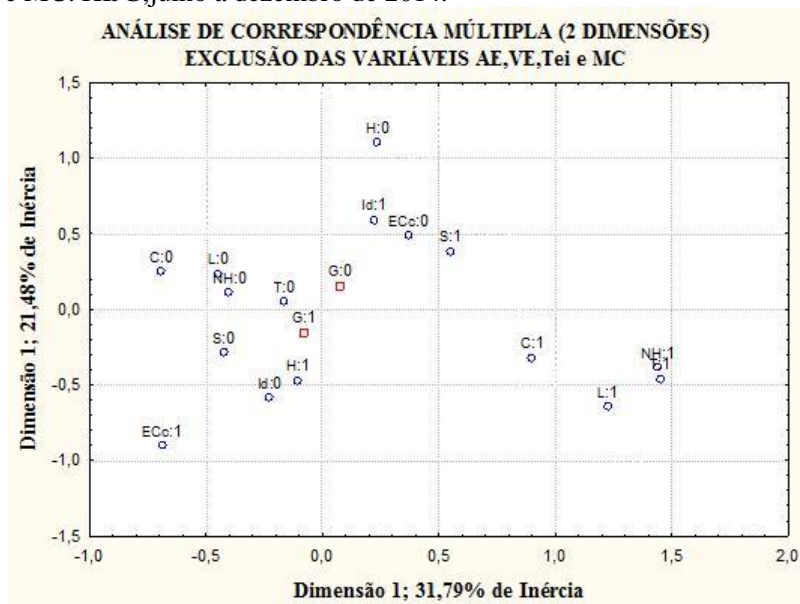


Fonte: produzido pelo autor.

G:0-grupo controle; G:1-grupo DC; S:0-sexo feminino; S:1-sexo masculino; Id:0-idade menor que 10 anos; Id:1-idade igual ou maior que 10 anos; MC:0-eutrofia; MC:1-sobrepeso; MC:2-magreza; EC:0-EMIC normal; EC:1-EMIC aumentada; C:0-colesterol total normal; C:1-colesterol total aumentado; L:0-LDL-c normal; L:1-LDL-c aumentado; H:0-HDL-c normal; H:1-HD-c baixo; NH:0-nãoHDL-c normal; NH:1-não HDL-c; T:0-TG normal; T:1-TG aumentado.



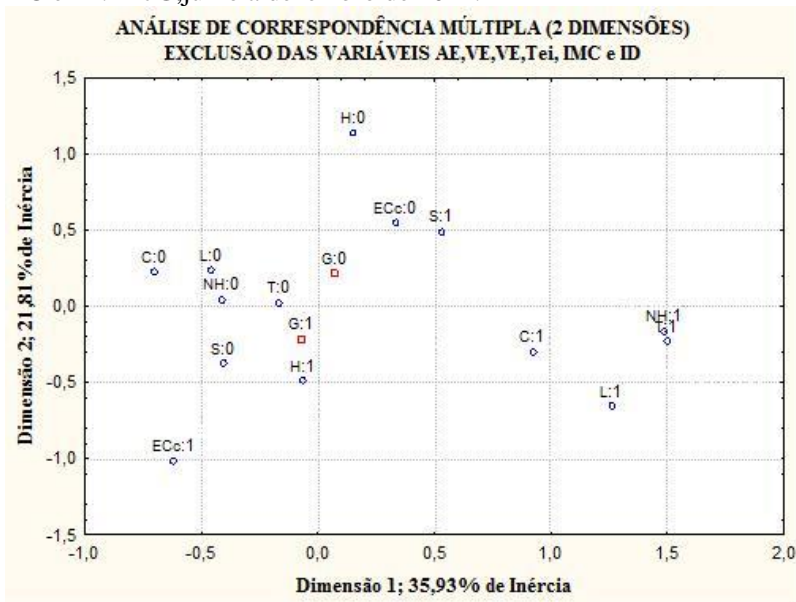
**Apêndice I-** Figura 16 - ACM com exclusão das variáveis AE, VE, Tei e MC. HIJG, julho a dezembro de 2014.



Fonte: produzido pelo autor.

G:0-grupo controle; G:1-grupo DC; S:0-sexo feminino; S:1-sexo masculino; Id:0-idade menor que 10 anos; Id:1-idade igual ou maior que 10 anos; EC:0-EMIC normal; EC:1-EMIC aumentada; C:0-colesterol total normal; C:1-colesterol total aumentado; L:0-LDL-c normal; L:1-LDL-c aumentado; H:0-HDL-c normal; H:1-HDL-c baixo; NH:0-nãoHDL-c normal; NH:1-não HDL-c; T:0-TG normal; T:1-TG aumentado.

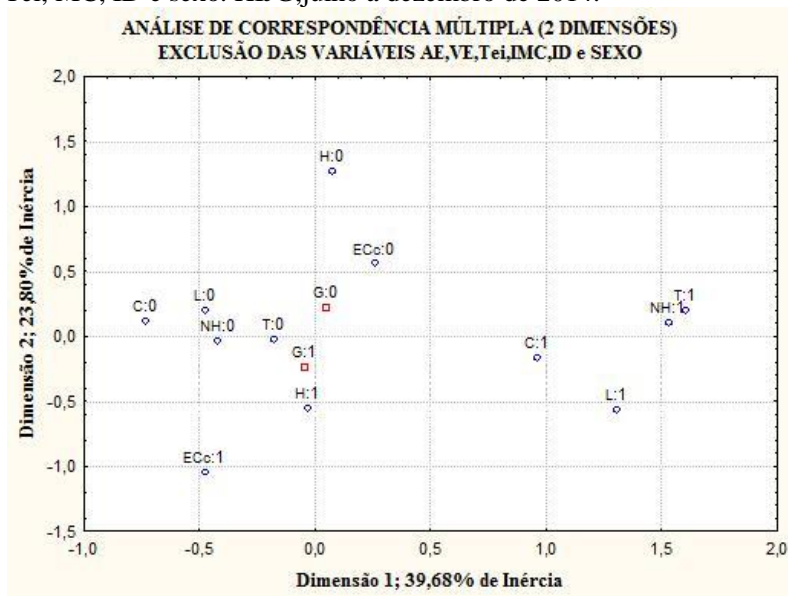
**Apêndice J-** Figura 17 - ACM com exclusão das variáveis AE, VE, Tei, MC e ID. HIJG, julho a dezembro de 2014.



Fonte: produzido pelo autor.

G:0-grupo controle; G:1-grupo DC; S:0-sexo feminino; S:1-sexo masculino; EC:0-EMIC normal; EC:1-EMIC aumentada; C:0-colesterol total normal; C:1-colesterol total aumentado; L:0-LDL-c normal; L:1-LDL-c aumentado; H:0-HDL-c normal; H:1-HD-c baixo; NH:0-nãoHDL-c normal; NH:1-não HDL-c; T:0-TG normal; T:1-TG aumentado.

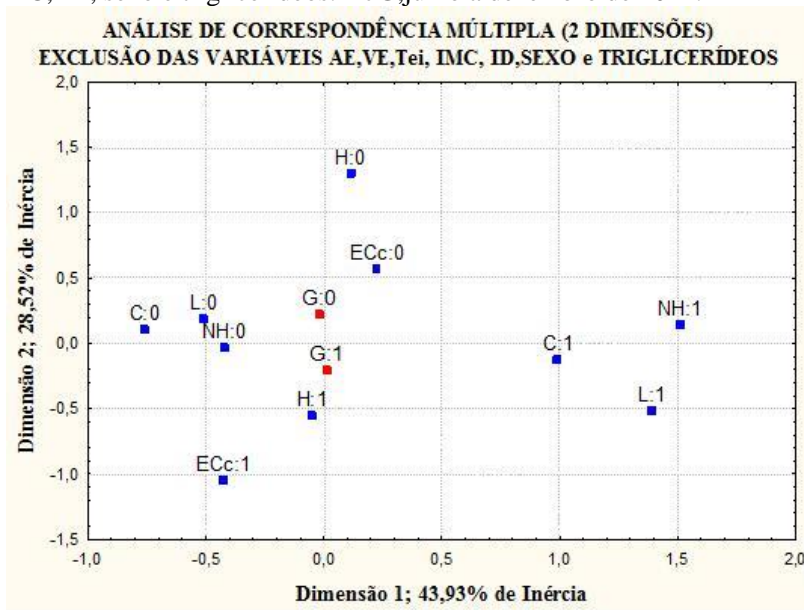
**Apêndice K-** Figura 18 - ACM com exclusão das variáveis AE, VE, Tei, MC, ID e sexo. HIJG, julho a dezembro de 2014.



Fonte: produzido pelo autor.

G:0-grupo controle; G:1-grupo DC; EC:0-EMIC normal; EC:1-EMIC aumentada; C:0-colesterol total normal; C:1-colesterol total aumentado; L:0-LDL-c normal; L:1-LDL-c aumentado; H:0-HDL-c normal; H:1-HD-c baixo; NH:0-nãoHDL-c normal; NH:1-não HDL-c; T:0-TG normal; T:1-TG aumentado. ; AE:0-diâmetro do AE normal; AE:1-diâmetro do AE aumentado; VE:0-DdVE normal; VE:1-DdVE; Tei:0-TeiVE normal; Tei:1-TeiVE aumentado.

**Apêndice L-** Figura 19 - ACM com exclusão das variáveis AE, VE, Tei, MC, ID, sexo e triglicerídeos. HIJG, julho a dezembro de 2014.



Fonte: produzido pelo autor.

G:0-grupo controle; G:1-grupo DC; EC:1-EMIC aumentada; C:0-colesterol total normal; C:1-colesterol total aumentado; L:0-LDL-c normal; L:1-LDL-c aumentado; H:0-HDL-c normal; H:1-HDL-c baixo; NH:0-nãoHDL-c normal; NH:1-não HDL-c.

## ANEXOS

## Anexo A - Parecer consubstanciado do CEP-HIJG

HOSPITAL INFANTIL JOANA  
DE GUSMÃO/ SES -SC



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** FATORES DE RISCO PARA ATERROTROMBOSE EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES

**Pesquisador:** MAURICIO LAERTE SILVA

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 27372714.2.0000.5361

**Instituição Proponente:** Hospital Infantil Joana de Gusmão/ SES - SC

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 550.201

**Data da Relatoria:** 06/03/2014

**Apresentação do Projeto:**

A Doença Celíaca (DC) é uma enteropatia imunomediada, caracterizada por intolerância permanente ao glúten, cuja prevalência populacional é em torno de 1%. Na faixa etária pediátrica de 2,5 a 15 anos a prevalência atinge aproximadamente 1:300 a 1:80 crianças. Hoje em dia acredita-se que a prevalência da DC é de 1 a 1,5 % na população mundial, havendo um provável aumento da mesma entre os caucasianos e no sexo feminino. Há ainda, uma maior prevalência entre parentes de primeiro grau com DC, sugerindo a susceptibilidade genética. Quanto mais próximos os familiares, maior é a prevalência: 70% em gêmeos monozigóticos, 10% em parentes de primeiro grau e 2,5% naqueles de segundo grau. Já está esclarecida a relação dessa enfermidade com os genes HLA (DQ2 e DQ8). A DC é associada com o HLA-DQ2 em 90 a 95% dos casos e com o HLA-DQ8 em 5 a 10% dos casos. As populações que não têm DQ2, chineses e japoneses, por exemplo, só apresentam DC nos indivíduos com DQ8. Contudo, a molécula DQ2 é comum na população em geral, de forma que apenas uma pequena proporção virá a desenvolver DC. Pensa-se que este fenômeno ocorre por desregulação da resposta imunitária, eventualmente relacionada com outros mecanismos genéticos subjacentes, citocinas ou agentes infecciosos, ainda não esclarecidos. Além disso, há uma contribuição dos genes não-HLA presentes no cromossomo 19 e no cromossomo 6 (Hansson et al., 1999; Van Belzen et al., 2003). Um estudo original realizado por Sabrá e colaboradores em 1999, em pacientes com DC, chamou pela primeira vez a atenção para a

**Endereço:** Rua Barbosa, nº 152

**Bairro:** Agrônoma

**CEP:** 88.025-301

**UF:** SC

**Município:**

**Telefone:** (48)3251-9092

**Fax:** (48)3251-9092

**E-mail:** cep@ijg@saude.sc.gov.br

## HOSPITAL INFANTIL JOANA DE GUSMÃO/ SES -SC



Continuação do Paciente: 850.201

elevação das citocinas INF-gama e IL-2, em concentrações até dez vezes maiores do que os valores encontrados nos controles, demonstrando desta forma que a doença celíaca apresenta mediação via Th-1. Cataldo et al. (2003), estudando 32 pacientes com DC com e sem deficiência seletiva de IgA, confirmaram os achados de Sabrá et al. (1999) quanto à via de resposta imunológica Th-1, acrescentando que quando existe associação de DC e deficiência de IgA, apresentam-se também elevados os valores de TNF-alfa e de IL-10. No Brasil, pesquisas recentes indicam uma prevalência da DC entre 1:214 a 1:681 pessoas. Em parentes de primeiro-grau a prevalência chegou a 4,8% em estudo transversal realizado em Brasília. Estima-se que sua prevalência seja ainda maior devido à grande variabilidade de sua apresentação clínica. A etiologia é considerada multifatorial, envolvendo fatores genéticos e ambientais. Geralmente a confirmação do diagnóstico de DC é tardio, devido às dificuldades e complexidade encontradas para sua realização. Existem alguns marcadores sorológicos relacionados com a doença: anticorpo anti-gliadina IgA e IgG, anticorpo anti-endomisio IgA e anticorpo anti-transglutaminase IgA. O diagnóstico deverá ser confirmado por meio da biópsia de segunda porção de duodeno, com as seguintes alterações Histopatológicas: aumento do número de linfócitos intra-epiteliais, hiperplasia das criptas e achatamento das vilosidades. (critérios da European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition ESPGHAN). A dieta isenta de glúten adotada no tratamento da DC está associada a erros alimentares que levam ao desbalançamento da dieta, com aumento no consumo de gorduras e diminuição no consumo de fibras e fontes de cálcio. Este consumo aumentado de gorduras está relacionado com aumento nos níveis séricos de colesterol total (CT) e LDL-colesterol (LDL) na população geral. No entanto, estudos em adultos com DC mostram níveis mais baixos de CT e LDL do que nos controles. Estudo italiano demonstrou CT e HDL-colesterol (HDL) baixo e triglicerídeos (TG) elevados em crianças com DC sem tratamento quando comparadas ao grupo sem DC. Após instituição de dieta isenta em glúten evoluíram com aumento do HDL e diminuição do CT e do LDL-c. Nenhuma pesquisa avaliou a dieta destas crianças qualitativa ou quantitativamente, tampouco a frequência de atividade física. A composição corporal das crianças e adolescentes com DC também é diferente da população geral, com aumento da massa magra e diminuição da massa gorda. Dieta rica em gorduras e aumento da massa gorda são fatores de risco para doença aterosclerótica. A mortalidade em adultos com DC é maior do que a da população geral e especificamente a mortalidade por doença cardiovascular chega a aumentar em 60% neste grupo de doentes, conforme detectado em alguns estudos recomendações na prevenção de Doença ateroscleróticas na infância e adolescência restringem a quantidade de gordura a partir do segundo ano de vida e não existem recomendações específicas

Endereço: Rui Barbosa, nº 152

Bairro: Agrônoma

UF: SC

Município:

Telefone: (48)251-9092

CEP: 88.025-301

Fax: (48)251-9092

E-mail: cep@saude.sc.gov.br

# HOSPITAL INFANTIL JOANA DE GUSMÃO/ SES -SC



Continuação do Parecer: 880.201

para crianças e adolescentes com DC, em tratamento. Sabendo que a doença aterosclerótica inicia na infância é importante conhecer quais alterações ocorrem na criança com DC e a existência de alterações no estado nutricional e em marcadores subclínicos de doença aterosclerótica. As doenças do aparelho circulatório representam hoje a principal causa de mortalidade no Brasil, sendo responsáveis por 27,8% do total de óbitos em 2004. Os determinantes sociais, como a industrialização, a urbanização e as mudanças de hábitos de vida, contribuíram para essa elevada taxa de mortalidade. As morbidades do aparelho circulatório também representam elevado custo social ao País. As doenças cardiovasculares requerem medidas preventivas na infância e na adolescência, com controle dos principais fatores de risco, que incluem as dislipidemias. Em estudos realizados em Bogalusa, uma comunidade birracial localizada no Estado de Louisiana, Estados Unidos, foi verificada uma associação entre os fatores de risco para doenças cardiovasculares (determinados previamente) e as lesões ateroscleróticas encontradas nas necropsias realizadas em crianças, adolescentes e adultos jovens que foram vítimas fatais de causas violentas como acidentes, assassinatos e suicídios. Nesses estudos, as concentrações plasmáticas elevadas de TG, CT, lipoproteínas de baixa densidade, ou LDL-colesterol (LDL-c) e lipoproteínas de muito baixa densidade, ou VLDL-colesterol (VLDL-c) foram associadas à presença de estrias gordurosas encontradas na aorta e artérias coronárias, enquanto a associação foi inversa com lipoproteínas de alta densidade, ou HDL-colesterol (HDL-c). Um grupo multicêntrico de pesquisadores que estuda os determinantes da aterosclerose na juventude (Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth - PDAY) realizou diversos estudos demonstrando associação dos fatores de risco para doenças cardiovasculares, determinados pós-morte, com lesões ateroscleróticas em adolescentes e adultos jovens que foram vítimas de morte violenta. Nos estudos do grupo, foram verificadas associações entre as concentrações de lipoproteínas de não alta densidade (não-HDL-c) e a extensão das estrias gordurosas na aorta abdominal, na artéria coronária direita e no ramo descendente da artéria coronária esquerda de Adolescentes e adultos jovens. As Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias (DBSD) e o programa nacional de educação sobre colesterol (National Cholesterol Education Program - NCEP) nos Estados Unidos recomendam a determinação do LDL-c pela fórmula de Friedewald como alvo prioritário para avaliação do risco e tratamento para redução de lipídeos. Contudo, esse critério não reflete a verdadeira concentração sérica das partículas de LDL-c. Além de tratar-se de uma medida indireta, existem outras desvantagens do LDL-c obtido pela fórmula de Friedewald: a) não avalia outras partículas consideradas aterogênicas; b) o valor do LDL-c se torna progressivamente menos acurado com o aumento das concentrações séricas de triglicérides e não pode ser calculado quando

Endereço: R. Rui Barbosa, nº 152  
Bairro: Agronomia  
UF: SC Município:  
Telefone: (48) 251-9092

CEP: 88.025-301

Fax: (48) 251-9092

E-mail: cep@saude.sc.gov.br

# HOSPITAL INFANTIL JOANA DE GUSMÃO/ SES -SC



Continuação do Parecer: 550.201

concentrações forem maiores que 400,0 mg/dL; c) requer jejum de 12 horas, necessário para determinação de Triglicérides. Por outro lado, o não-HDL-c, calculado pela diferença entre o colesterol total e o HDL-c, inclui todo o colesterol presente nas partículas de lipoproteínas consideradas potencialmente aterogênicas (LDL-c, VLDL-c, lipoproteínas de densidade intermediária (IDL) e lipoproteína-A) e exclui o HDL-c, considerado anti-aterogênico. O cálculo para obtenção do não-HDL-c, além de simples, envolve baixo custo e não sofre influência das concentrações de triglicérides porque dispensa a sua determinação. Dessa forma, o não-HDL-c traz uma vantagem metodológica adicional, que é a de não exigir jejum de 12 horas. Ainda são raras as investigações abordando o não-HDL-c em populações infanto-juvenis. Os resultados do estudo de Seki e cols. contribuem para uma estimativa dos valores de colesterol não-HDL na população de crianças e adolescentes brasileiros e indicam que o colesterol não-HDL é um método confiável e de menor custo para investigar a presença de dislipidemias em crianças e adolescentes. A aterosclerose inicia na infância. Estudos epidemiológicos têm demonstrado que diversos fatores, que influenciam diretamente na progressão da doença, já podem ser identificados na primeira década de vida, muito antes da placa formada gerar manifestações de sinais e sintomas de doença cardiovascular. Embora uma história de pais com doença arterial coronariana prematura tem sido reconhecida como um fator de risco para doença cardíaca, não está bem estabelecido quando as anormalidades cardiovasculares possam ser identificadas em indivíduos com este Antecedente. A detecção de alterações ateroscleróticas vasculares precocemente na infância poderia auxiliar na identificação de sujeitos com alto risco para esta condição e fornecer estratégias de intervenção precoce, com foco na redução de fatores de risco modificáveis como obesidade, hiperlipidemias, hipertensão arterial e tabagismo. Ultrassom bi-dimensional de alta resolução tem se mostrado como um método não invasivo confiável na mensuração da espessura médio-intimal carotídea (EMIC).<sup>6</sup> Já foi descrito por diversos autores um aumento na EMIC de crianças, adolescentes e adultos jovens com história de pais com infarto do miocárdio prematuro. Miocardiopatia dilatada é a mais comum entre os tipos de miocardiopatias existentes. Sua etiologia está relacionada a causas genéticas, endocrinopatias, collagenoses, doenças metabólicas congênitas, distrofias musculares, doenças cardíacas estruturais, miocardite aguda e crônica, drogas e toxinas. Entretanto, em 50% dos casos sua etiologia é desconhecida. Recentemente, foi relatada a maior Prevalência de DC em pacientes portadores de miocardiopatia dilatada idiopática, bem como em pacientes com miocardiopatia secundária, alertando para a necessidade de ser considerada esta possibilidade causal em todos os pacientes com miocardiopatia dilatada idiopática e, em algumas circunstâncias, também naquelas secundárias.

Endereço: Rul Barbosa, nº 152  
Bairro: Agronômica CEP: 88.025-301  
UF: SC Município:  
Telefone: (48)3251-9092 Fax: (48)3251-9092 E-mail: cep@p@saude.sc.gov.br



HOSPITAL INFANTIL JOANA  
DE GUSMÃO/ SES -SC



Continuação do Parecer: 550.201

**1.1 JUSTIFICATIVA:** A DC tem prevalência de 1% na população. Seu tratamento envolve isenção do glúten na dieta e consequente aumento no consumo de gorduras. Hábito alimentar com grande consumo de gorduras está relacionado, na população geral, com risco de desenvolvimento de doença aterosclerótica. A mortalidade por doença cardiovascular é aumentada em indivíduos com DC, e está relacionada com níveis de colesterol, índice de massa corporal e pressão arterial alterados. Sabe-se que a doença aterosclerótica inicia-se na infância e assim sendo, sua prevenção também deve iniciar na infância. Existem poucos estudos relacionando doença aterosclerótica e dislipidemia com DC e nenhum publicado sobre a associação positiva, ou não, de DC com alteração da espessura médio-intimal carotídea. Recentemente foram lançadas novas recomendações para prevenção de doença aterosclerótica em crianças e adolescentes. Estas recomendações não incluem crianças com DC. Conhecer o perfil nutricional, os fatores de risco cardiovascular laboratoriais e subclínicos (marcadores inflamatórios, a EMIC e as funções sistó-diastólicas do coração), relacionados à doença celíaca, é de fundamental importância para traçar estratégias de prevenção da aterosclerose e de doenças cardiovasculares no adulto com DC.

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:**

Avaliar fatores de risco para doença cardiovascular aterotrombótica em crianças e adolescentes portadores de DC em tratamento ambulatorial.

**Objetivo Secundário:**

- Verificar aspectos demográficos. Avaliar o estado nutricional. Avaliar bioquimicamente o perfil lipídico sérico (colesterol total e frações, triglicerídeos) e de marcadores inflamatórios séricos (Proteína C-reativa altamente sensível, Interleucinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias).
- Avaliar a espessura médio-intimal da artéria carótida (EMIC) comum direita.
- Avaliar as funções sistó-diastólicas de ambos os ventrículos.
- Verificar associações entre aspectos demográficos, lipídios séricos, marcadores inflamatórios séricos, EMIC e funções cardíacas sistó-diastólicas biventriculares, no grupo com DC e entre este e um grupo de crianças e adolescentes sem DC, e saudáveis.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Os sujeitos serão submetidos à punção venosa periférica, para obtenção de sangue para análise laboratorial, executada por técnico devidamente habilitado e capacitado. O ultrassom não

Endereço: Rui Barbosa, nº 152

Bairro: Agrônoma

UF: SC

Município:

Telefone: (48)3251-9092

CEP: 88.025-301

Fax: (48)3251-9092

E-mail: cep@gsaude.sc.gov.br

HOSPITAL INFANTIL JOANA  
DE GUSMÃO/ SES -SC



Continuação do Parecer: 950.201

**PENDÊNCIA ATENDIDA.**

3. No texto "As citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias FORAM (destaque nosso) patrocinadas pelo Hospital Universitário da UFSC, com um custo de R\$ 18.182,00 (dezoito mil e cento e oitenta e dois reais), como parceria com o Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da mesma Instituição". Estes exames já foram colhidos? Serão utilizados dados já coletados?

No documento: Esclarecimentos sobre as pendências apontadas são feitos os esclarecimentos.  
**PENDÊNCIA ATENDIDA.**

4. Quanto à Ecografia:

a. Onde este exame será realizado?

b. Em caso de ser realizado fora do HIJG, em horário diferente ao da consulta médica de acompanhamento destas crianças/adolescentes, isto exigirá deslocamento dos pais/crianças ao local de realização desta. Estão previstos custos quanto ao ressarcimento dos valores pagos pelos pais/acompanhantes para este deslocamento?

No documento: Esclarecimentos sobre as pendências apontadas e na versão atualizada do projeto de pesquisa são feitos os esclarecimentos. **PENDÊNCIA ATENDIDA.**

5. Quanto aos controles: é necessária a apresentação da concordância para realização do estudo, assinada pela direção da Escola da Rede Municipal de Ensino.

Resposta: Por questão de esclarecimento, a escola municipal na qual serão selecionadas as crianças e adolescentes para o grupo de controles só emite a liberação para a pesquisa após a apresentação da aprovação do CEP. Portanto, neste momento não poderéi apresentá-la, mas me comprometo a entregá-la a este CEP assim que for possível. Portanto, o andamento da pesquisa, por questão burocrática da PMF, exige a aprovação do CEP previamente.

**PENDÊNCIA ATENDIDA.**

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Endereço: Rul Barbosa, nº 152	CEP: 88.025-301
Bairro: Agronômica	
UF: SC	Município:
Telefone: (48)3251-9092	Fax: (48)3251-9092 E-mail: cep@ig@saude.sc.gov.br

HOSPITAL INFANTIL JOANA  
DE GUSMÃO/ SES -SC



Continuação do Parecer: 880.301

**Considerações Finais a critério do CEP:**

10 de Março de 2014

---

Assinado por:  
Vanessa Borges Platt  
(Coordenador)

Endereço: Rua Barbosa, nº 152

Bairro: Agronômica

CEP: 88.025-301

UF: SC Município:

Telefone: (483)251-9092

Fax: (483)251-9092

E-mail: cep@gsaude.sc.gov.br

## Anexo B -Artigo Publicado no Jornal de Pediatria (JPed RIO J)

J Pediatr (Rio J). 2014;90(4):403–407



Jornal de  
**Pediatria**

www.jpmed.com.br



### ORIGINAL ARTICLE

## Biventricular diastolic function assessed by Doppler echocardiogram in children vertically infected with human immunodeficiency virus<sup>☆</sup>

Maurício L. Silva<sup>a,b,\*</sup>, Sílvia M. Nassar<sup>b,c</sup>, André P. Silva<sup>b</sup>, Leandro L. Ponce<sup>a</sup>, Maria M. de S. Pires<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Hospital Infantil Joana de Gusmão, Secretaria de Estado de Saúde de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil

<sup>b</sup>Hospital Universitário, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil

<sup>c</sup>Department of Informatics and Statistics, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil

Received 30 September 2013; accepted 28 November 2013

Available online 11 March 2014

### KEYWORDS

Ventricular function;  
infectious diseases;  
children

### Abstract

**Objective:** to determine, by Doppler-echocardiography, the frequency of cardiac diastolic dysfunction in asymptomatic and clinically stable pediatric patients with vertical infection by the human immunodeficiency virus (HIV), from the cardiovascular viewpoint.

**Methods:** this was an observational, prospective, and cross-sectional study, performed at a regional referral clinic for patients with HIV, in a convenience sample of 94 individuals, assessing biventricular diastolic function by Doppler-echocardiography, and weight, blood hemoglobin, and percentage of lymphocytes T-CD4<sup>+</sup>.

**Results:** fifty patients had diastolic dysfunction. Left ventricular dysfunction occurred in 38.7%, and the predominant type of dysfunction was decreased myocardial compliance. Right ventricular dysfunction was observed in 29.4% of the sample, and abnormal relaxation was the most prevalent type. Simultaneous biventricular dysfunction occurred in 14.1% of the individuals. There was no association between dysfunction and the immune status.

**Conclusions:** diastolic dysfunction occurred, individually or simultaneously, with no association with immune status; decreased myocardial compliance was predominant in the left ventricle, and abnormal relaxation in the right ventricle.

© 2014 Sociedade Brasileira de Pediatria. Published by Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

<sup>☆</sup> Please cite this article as: Silva ML, Nassar SM, Silva AP, Ponce LL, Pires MM. Biventricular diastolic function assessed by Doppler echocardiogram in children vertically infected with human immunodeficiency virus. J Pediatr (Rio J). 2014;90:403–7.

\* Corresponding author.

E-mail: mauricio.laertegunilul.br, mauricio.silva@ufsc.br (M.L. Silva).

**PALAVRAS-CHAVE**  
Função ventricular;  
Doenças infecciosas;  
Crianças

**A função diastólica biventricular por meio da análise com ecocardiograma com Doppler em crianças infectadas verticalmente pelo vírus da imunodeficiência humana**

#### Resumo

**Objetivo:** verificar, por meio do ecocardiograma com Doppler, a frequência de disfunção cardíaca diastólica em pacientes com infecção vertical pelo vírus da imunodeficiência humana na faixa pediátrica, assintomáticos e clinicamente estáveis do ponto de vista cardiovascular. **Métodos:** estudo observacional, prospectivo e transversal, realizado em um Ambulatório de Referência Regional para pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana, com uma amostra de conveniência de 94 pacientes, avaliados pelo sexo, idade, peso, função diastólica biventricular ao Doppler, hemoglobina sanguínea e percentual de linfócitos T-CD4<sup>+</sup>.

**Resultados:** apresentaram disfunção diastólica 50 pacientes. Disfunção ventricular esquerda ocorreu em 38,7% deles, e o tipo de disfunção predominante foi diminuição da complacência miocárdica. A disfunção ventricular direita foi evidenciada em 29,4% da amostra, sendo o tipo relaxamento anormal o mais prevalente. Disfunção biventricular simultânea ocorreu em 14,1% dos indivíduos. Não houve associação da disfunção com o estado imunológico.

**Conclusões:** foi verificada disfunção diastólica, isolada ou simultânea, sem associação com o estado imunológico, sendo a diminuição da complacência miocárdica mais comum no ventrículo esquerdo e relaxamento anormal no ventrículo direito.

© 2014 Sociedade Brasileira de Pediatria. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

## Introduction

Cardiovascular manifestations often occur in children with vertical infection by the human immunodeficiency virus (HIV), and the most likely cause is multifactorial. In a prospective study, the cumulative five-year incidence of cardiac dysfunction in children ranged from 18% to 39%, and was the HIV-related cause of death in 11.8%.<sup>1-4</sup>

Subclinical cardiac abnormalities may develop in early HIV infection, even among individuals with asymptomatic disease or without cardiac dysfunction.<sup>1,4-9</sup>

The resolution of dilated cardiomyopathy in vertically infected children has been reported in those treated with a combination of drugs.<sup>1,10-12</sup> It is possible that a change in diastolic function will precede systolic dysfunction, as observed in other clinical conditions, both in adults and in children and adolescents.<sup>1,13-23</sup>

The aim of this study was to determine the frequency of diastolic dysfunction in children vertically infected with HIV, both symptomatic and asymptomatic, and clinically stable from the cardiovascular perspective. The association between diastolic dysfunction and immunological status, malnutrition, and anemia was also investigated.

## Methods

This was an observational, cross-sectional study performed in a regional pediatric outpatient clinic for follow-up of patients with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS), consisting of a convenience, non-probabilistic sample.

The protocol and the informed consent were approved by the institutional ethics committee, and all participants consented to the study through their legal guardians. From June to November of 1999, 139 children vertically infected

with HIV were evaluated, of whom 94 were selected according to the inclusion criteria. Age ranged from 20.3 to 170.6 months (mean 69.7 months) and 52 (55.0%) were males.

The definitive diagnosis was made according to the parameters of the Centers for Disease Control and Prevention (CDC, Atlanta, United States) of 1994: positive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and confirmatory test (Western blot).<sup>24</sup>

Forty-five patients were excluded from the analysis due to at least one of the following conditions: congenital heart disease; congestive heart failure; arrhythmia; aneuploidy; HIV-related infections; use of medications, including digitalis, beta-blockers, vasodilators, and antiarrhythmic drugs; use or previous use of cardiotoxic chemotherapeutic agents; percentage of T CD4<sup>+</sup> lymphocytes obtained at intervals greater than four months before or after the date of inclusion; and legal guardian's refusal of patient's participation in any phase of the study.

After obtaining the informed consent and determining patient eligibility for the study, blood samples were collected and the Doppler study was completed.

## Variables

The following variables were observed and recorded: gender, age (months), weight/age Z-scores<sup>25</sup> using the software Epi Info<sup>TM</sup> 6.04 (GA, USA), blood hemoglobin level (g/dL), percentage of T CD4<sup>+</sup> lymphocytes, peak velocity of the E and A waves in the mitral and tricuspid valves (cm/s), and their ratios. The normal reference values used for the analysis of diastolic function in both ventricles were obtained from the available literature.<sup>26,27</sup>

Cardiac variables were obtained by pulsed Doppler in the apical four-chamber view, using a commercially available electronic transducer with a frequency of 3.5 or

Table 1 Categories of mitral valve E/A ratio according to age groups.

MV E/A	Age groups									
	Infant		Preschooler		School-aged		Adolescent		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Normal	1	1.1	36	38.7	14	15.1	6	6.4	57	61.3
Lower	0	0.0	8	8.6	2	2.1	0	0.0	10	10.7
Upper	1	1.1	13	14.0	7	7.5	5	5.4	26	28.0
Total	2	2.2	57	61.3	23	24.7	11	11.8	93	100.0

MV E/A, ratio between the peak velocities of E wave/A wave in the mitral valve; Infant,  $\geq 18$  and  $< 24$  months; Preschooler,  $\geq 24$  and  $< 60$  months; School-aged,  $\geq 60$  and  $< 120$  months; Adolescent,  $\geq 120$  and  $< 180$  months.

5.0 MHz (SI450 Sonoline; Siemens-Germany), guided by two-dimensional echocardiography and performed by one of the authors (JLS).

All measurements were the mean result of three consecutive cardiac cycles, and were performed on the equipment display screen and printed on X-ray films.

Statistical analysis was performed with Statistica 5.0 software (StatSoft, Brazil). Descriptive statistics and estimation of parameters were calculated (with 95% confidence intervals of [95% CI]), using factorial analysis (through the analysis of the main components) and multiple correlation analysis.

The ratios of E/A velocities of the atrioventricular valves were considered the main variables. Severe anemia and moderate or severe protein-calorie malnutrition were considered confounders.

## Results

Of the 94 children studied, 52 (55%) were males. There was a predominance of preschoolers, followed by school-aged children, but no differences were found between genders. Age ranged from 20.3 to 170.6 months (mean  $69.7 \pm 31.7$  months, and median 65.3 months).

Immunological status evaluation showed that the majority of children (57.4%) were non-immunocompromised ( $CD4+ \geq 25\%$ ). Moderate immunological impairment ( $CD4+$  of 15% to 25%) was observed in 29 (30.9%), and severe immunological impairment ( $CD4+ < 15\%$ ) in 11 (11.7%).

Blood levels of hemoglobin (g/dL) ranged from 5.4 to 14.2, with a mean of  $11.7 \pm 1.3$ , median of 11.7, and no significant differences between genders.

It was observed that ten (10.9%) children, five of each gender, had moderate or severe protein-calorie malnutrition ( $z$ -score  $\leq -2.0$ ).

As for the mitral E/A ratio, ten children had values below the minimum normal value (1.1), 26 were above the maximum normal value (3.9), and the remaining 57 were normal. When analyzing the tricuspid E/A ratio, normal values were found in 65 children. In contrast, in 15 the ratio was lower than the minimum normal value (1.36), and 12 had values above the maximum normal value (3.1).

As shown in Tables 1 and 2, the upper category of the mitral E/A ratio included 26 children (28.0%), and when assessing the association between the age groups, a slight predominance of preschoolers was observed (14.0%). The same occurred in the lower category, with eight of ten children. The upper tricuspid E/A ratio occurred in eight of 12 preschoolers and the lower in ten of the 15 individuals in this age group.

When comparing the E/A ratio of both valves with the immunological status, nutritional status, and blood hemoglobin levels, no trend of association was observed.

The comparison between the mitral and tricuspid E/A ratios showed no association. The left heart abnormalities were not associated with abnormalities in the right side. Fifty of the 92 children had right and/or left ventricular dysfunction during the study.

Factorial analysis identified two distinct groups of children who were slightly separated, indicating that they would

Table 2 Categories of tricuspid valve E/A ratio according to age groups.

TV E/A	Age groups									
	Infant		Preschooler		School-aged		Adolescent		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Normal	2	2.2	38	41.3	15	16.3	10	10.9	65	70.7
Lower	0	0.0	10	10.8	5	5.4	0	0.0	15	16.2
Upper	0	0.0	8	8.7	3	3.3	1	1.1	12	13.1
Total	2	2.2	56	60.8	23	25.0	11	11.8	92	100.0

TV E/A, ratio between the peak velocities of E wave/A wave in the tricuspid valve; Infant,  $\geq 18$  and  $< 24$  months; Preschooler,  $\geq 24$  and  $< 60$  months; School-aged,  $\geq 60$  and  $< 120$  months; Adolescent,  $\geq 120$  and  $< 180$  months.

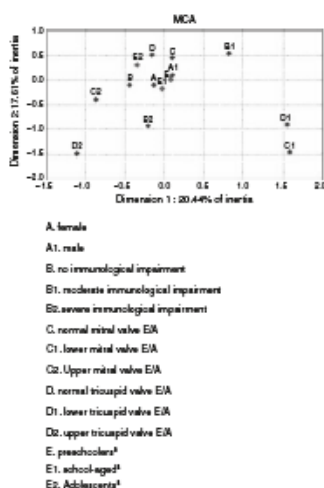


Figure 1 Multiple correlation analysis (MCA) between categorical variables.

\*Supplementary variables.

need further clinical evaluation, as they probably constituted two classes with distinct characteristics.

The results of the multiple correlation analysis for all seven possible dimensions demonstrated that the first dimension had the highest percentage of inertia, or 20.44% of the total inertia. After including the second dimension analysis, the percentage of inertia increased to 38.05%.

The numbers generated from the simple and inertia values for all dimensions of the 11 independent variables, in two dimensions, contributed to the categorical behavior analysis. However, data generated by multiple correlation analysis showed an independent behavior, with no association between categorical variables (Fig. 1).

## Discussion

HIV-infected children are predisposed to cardiac dysfunction as an independent predictor of all-cause mortality, and the exact pathogenesis of cardiac events remains uncertain, but it is most likely multifactorial.<sup>1,24</sup>

To prevent complications, the assessment of subclinical cardiac abnormalities is suggested. In adults, an independent association between diastolic dysfunction and HIV infection was reported in a series of studies, even among

asymptomatic HIV-infected patients in the early stages of the disease.<sup>1,16-20</sup>

It is possible that the diastolic alterations may be an early finding, but their impact on the clinical course of the disease and the possible reversibility of severe complications still need to be elucidated.<sup>1,15-17,25</sup>

Diastolic dysfunction was found in 50 (54.3%) children, regardless of the side. When the left and right sides were evaluated separately, it was observed that 38.7% (95% CI: 28.8%-48.6%) had left diastolic dysfunction and 29.4% (95% CI: 20.1%-38.7%) had right diastolic dysfunction. On the left side, there was a predominance of decreased myocardial compliance (28.0%; 95% CI: 6.9%-37.1%) compared to 10.7% of abnormal relaxation (95% CI: 4.4%-17.0%). The situation was the opposite on the right side of the heart, with a slight predominance of abnormal relaxation (16.3%; 95% CI: 8.7%-23.7%) compared to the decrease in compliance (13.1%; 95% CI: 6.2%-20.0%).

Plein et al.<sup>23</sup> reported abnormalities in the left ventricular filling pattern, such as reduction in the maximum velocity of the E wave and increased deceleration time, consistent with diastolic dysfunction in HIV-infected children, classified as stage C according to the classification reviewed by the CDC.

Reports on left ventricular diastolic dysfunction in children are limited, and the existing are almost always associated with systolic dysfunction, as they are usually symptomatic.<sup>21,26</sup>

The fact that the immunological status and physical examination did not show a direct association with cardiac involvement demonstrates that HIV-infected children and adolescents should be submitted to Doppler echocardiographic study as part of the evaluation, even when asymptomatic from a cardiovascular perspective.

Limitations of this study are related to the design, since a non-probabilistic, convenience sample was used, limiting the external validity of these results. The selection bias, inherent to investigations in referral centers, was considered in the sample composition, when the authors planned to study all potentially eligible children.

This sample was characterized as a more selective group. Potential confounders, including severe anemia and moderate to severe protein-calorie malnutrition, showed low frequencies, and it was not possible to assess their influence as associated causes of cardiac dysfunction. However, this fact reflects the studied group's stable condition, as anemia and malnutrition are still prevalent conditions in Brazil.

Cardiac diastolic dysfunction occurred in patients with the selected characteristics, and there was no association with immunological status. Decreased myocardial compliance was more frequent in the left ventricle and abnormal relaxation in the right ventricle.

## Funding

The study was funded by the authors. Hospital Infantil Joana de Gusmão (HJG) provided the equipment to perform the echocardiography assessment and the material for the documentation of examinations (X-ray films). Laboratory tests were performed as part of patients' routine outpatient care, with no additional costs for the institution (HJG). The



Infectious Disease Department of HUJG authorized the use of its facilities for the primary care of patients and for the explanation necessary to the informed consent.

### Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

### References

- Stanc TJ, Lipshultz SE, Eastley KA, Kaplan S, Bricker JT, Colan SD, et al. Incidence of cardiac abnormalities in children with human immunodeficiency virus infection: the prospective P2C2 HIV study. *J Pediatr*. 2002;141:327–34.
- Langston C, Cooper BR, Goldfarb J, Eastley KA, Husak S, Sunkle S, et al. Human immunodeficiency virus-related mortality in infants and children: data from the pediatric pulmonary and cardiovascular complications of vertically transmitted HIV (P2C2) Study. *Pediatrics*. 2001;107:328–38.
- Hsieh PY, Hunt PW, Ho JE, Farah HR, Schnell A, Hoh R, et al. Impact of HIV infection on diastolic function and left ventricular mass. *Circ Heart Fail*. 2010;3:132–9.
- Barbarina G, Barbaro G. Incidence of the involvement of the cardiovascular system in HIV infection. *AIDS*. 2003;17:548–50.
- Lipshultz SE, Eastley KA, Orav EJ, Kaplan S, Stanc TJ, Bricker JT, et al. Cardiac dysfunction and mortality in HIV-infected children: the Prospective P2C2 HIV Multicenter Study. *Pediatric Pulmonary and Cardiac Complications of Vertically Transmitted HIV Infection (P2C2 HIV) Study Group*. *Circulation*. 2000;102:1542–8.
- Plebani A, Esposito S, Piccini R, Feslova V, Bojanin J, Salice P, et al. Effect of highly active antiretroviral therapy on cardiovascular involvement in children with human immunodeficiency virus infection. *Pediatr Infect Dis J*. 2004;23:559–63.
- Shah I, Prabhu SS, Smitra V, Shashikiran HS. Cardiac dysfunction in HIV infected children: a pilot study. *Indian Pediatr*. 2005;42:146–9.
- Lubega S, Zimbreanu GW, Lwabi P. Heart disease among children with HIV/AIDS attending the paediatric infectious disease clinic at Mulago Hospital. *Afr Health Sci*. 2005;5:219–26.
- Brown SC, Schoeman CJ, Besser CE. Cardiac findings in children admitted to a hospital general ward in South Africa: a comparison of HIV-infected and uninfected children. *Clin Infect Dis*. 2005;40:146–50.
- Cunha M do C, Siqueira Filho AG, Santos SR, Abreu TF, Oliveira RH, Baptista DM, et al. AIDS in childhood: cardiac involvement with and without triple combination antiretroviral therapy. *Arq Bras Cardiol*. 2008;90:11–7.
- Hindry G, Pinto CA, Lopes VS, Ribeiro RP, Gomes MA, Tchou HY, et al. Study of the cardiac alterations in HIV-infected children consequent to the antiretroviral therapy. Prospective study of 47 cases. *Arq Bras Cardiol*. 2003;80:311–20.
- Dibegans MS, Sucro RC, Machado DM, Morais VA, Novo HF, Carvalho AC. Cardiac longitudinal study of children perinatally exposed to human immunodeficiency virus type 1. *Arq Bras Cardiol*. 2005;85:233–40.
- Coudray H, de Zuttere D, Force G, Champetier de Ribes D, Puertty JC, Antony I, et al. Left ventricular diastolic function in asymptomatic and symptomatic human immunodeficiency virus carriers: an echocardiographic study. *Eur Heart J*. 1995;16:61–7.
- Cardoso JS, Moura B, Martins L, Mota-Miranda A, Rocha Gonçalves F, Lecour H. Left ventricular dysfunction in human immunodeficiency virus (HIV)-infected patients. *Int J Cardiol*. 1998;63:37–45.
- Longo-Milena B, Seghen BY, Vila EK, Tondungu K, Bayekula M. Assessment of ventricular diastolic function in AIDS patients from Congo: a Doppler echocardiographic study. *Heart*. 1998;80:184–9.
- Martinez-Garcia T, Sobrinho JM, Pujol E, Galvez J, Benitez E, Grón-González JA. Ventricular mass and diastolic function in patients infected by the human immunodeficiency virus. *Heart*. 2000;84:620–4.
- Hayak G, Ferguson M, Tibbels DR, Porter CK, Rapone R, Marchionni M, et al. Cardiac diastolic dysfunction is prevalent in HIV-infected patients. *AIDS Patient Care STDs*. 2009;23:331–8.
- Schuster I, Thöni GJ, Edrity S, Walther G, Nottin S, Vinek A, et al. Subclinical cardiac abnormalities in human immunodeficiency virus-infected men receiving antiretroviral therapy. *Am J Cardiol*. 2008;101:1213–7.
- Aggarwal P, Sharma A, Bhardwaj R, Raina R. Myocardial dysfunction in human immunodeficiency virus infection: an echocardiographic study. *J Assoc Physicians India*. 2009;57:745–6.
- Rainisch H, Heuhaus K, Esser S, Pottorf A, Hoyer W, Brodmeier HH, et al. Prevalence of cardiac diastolic dysfunction in HIV-infected patients: results of the HIV-HEART study. *HIV Clin Trials*. 2010;11:156–62.
- Meng Q, Lima JA, Lal H, Vlahov D, Colan SD, Strathdee S, et al. Use of HIV protease inhibitors is associated with left ventricular morphologic changes and diastolic dysfunction. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;30:106–10.
- Lipshultz SE, Chanock S, Sanders SF, Colan SD, Perez-Akayde A, McIntosh K. Cardiovascular manifestations of human immunodeficiency virus infection in infants and children. *Am J Cardiol*. 1989;63:1489–97.
- Plain D, Van Camp G, Coyns B, Alimonti A, Levy J, Vandenberghe JL. Cardiac and autonomic evaluation in a pediatric population with human immunodeficiency virus. *Clin Cardiol*. 1993;16:323–6.
- Centers for Disease Control and Prevention. 1994 Revised classification system for human immunodeficiency virus infection in children less than 13 years of age; official authorized addenda: human immunodeficiency virus infection codes and official guidelines for coding and reporting ICD-9-CM. *MMWR*. 1994;43:1–20.
- Mora JO. A new method for estimating a standardized prevalence of child malnutrition from anthropometric indicators. *Bull World Health Organ*. 1989;67:133–42.
- Grenadier E, Oliveira Lima C, Allen HD, Sahn DJ, Vargas Barron J, Valdes-Cruz LM, et al. Normal intracardiac and great vessel Doppler flow velocities in infants and children. *J Am Coll Cardiol*. 1984;4:343–50.
- Bu Lock R, Mott MG, Martin RP. Left ventricular diastolic function in children measured by Doppler echocardiography: normal values and relation with growth. *Br Heart J*. 1993;73:334–9.
- Bowles HE, Kearney DL, N J, Perez-Akayde AR, Kline HW, Bricker JT, et al. The detection of viral genomes by polymerase chain reaction in the myocardium of pediatric patients with advanced HIV disease. *J Am Coll Cardiol*. 1999;34:857–65.
- Blanchard DG, Hagenhoff C, Chow LC, McCann HA, Dittich HC. Reversibility of cardiac abnormalities in human immunodeficiency virus (HIV)-infected individuals: a serial echocardiographic study. *J Am Coll Cardiol*. 1991;17:1270–6.
- Lipshultz SE, Eastley KA, Orav EJ, Kaplan S, Stanc TJ, Bricker JT, et al. Left ventricular structure and function in children infected with human immunodeficiency virus: the prospective P2C2 HIV Multicenter Study. *Pediatric Pulmonary and Cardiac Complications of Vertically Transmitted HIV Infection (P2C2 HIV) Study Group*. *Circulation*. 1998;97:1246–56.



## Anexo C – Artigo submetido ao Journal of the American Society of Echocardiography, em análise editorial

Elsevier Editorial System(tm) for Journal of the American Society of Echocardiography  
Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: Myocardial Performance Index (Tei Index) in Pediatrics: Reference Values in Healthy Individuals and Its Comparison to a Sample of Patients with Dilated Cardiomyopathy

Article Type: Original Investigation

Keywords: echocardiography; cardiac function; diastole; children; adolescents

Corresponding Author: Dr. MARIA MARLENE S PIRES, MD,PhD

Corresponding Author's Institution: Hospital Infantil Joana de Gusmão

First Author: MAURICIO L SILVA, MD, MSc

Order of Authors: MAURICIO L SILVA, MD, MSc; VERA R FERNANDES, MD, MSc; IEDA B JATENE, MD, PhD; Nilzete L Bresolin, MD, MSc; ARIEL C ROSA, GRADUATION STUDENT; MARIA ANGÉLICA BINOTTO, MD, PhD; ANA LUIZA L HALLAL, MD, PhD; MARIO S COUTINHO, MD, PhD; MARIA MARLENE S PIRES, MD, PhD

Abstract: Introduction: The myocardial performance index (MPI), or Tei index, is an echocardiographic measure to assess combined systolic and diastolic cardiac function.

The objectives of the study were to determine MPI values for the left and right ventricles in children and adolescents without heart disease, the variation in MPI with age, the intraobserver and interobserver reproducibility of the measurements, and to compare the MPI of individuals with and without dilated cardiomyopathy (DCM).

Material and Methods: This investigation was an observational, cross-sectional, prospective study conducted at the Hospital Infantil Joana de Gusmão in Florianópolis, Santa Catarina state, Brazil. The MPI of the left ventricle (LVMPI) and right ventricle (RVMPI) were determined in 121 patients without heart disease and 7 with DCM. To assess intraobserver and interobserver reproducibility, the indices of 28 individuals without heart disease were recalculated 30 days after the first measurement by one of the investigators and by a second observer.

Results: Among the individuals without heart disease, LVMPI was  $0.37 \pm 0.08$  and RVMPI was  $0.32 \pm 0.06$ . In the children with DCM, LVMPI and RVMPI were  $1.16 \pm 0.16$  and  $1.05 \pm 0.42$ , respectively.

Conclusions: The myocardial performance index was not affected by age in individuals with no heart disease. Both LVMPI and RVMPI were greater in children and adolescents with DCM compared to those without heart disease. Intraobserver reproducibility was high for LVMPI and moderate for RVMPI while interobserver reproducibility was high for LVMPI and low for RVMPI.

Suggested Reviewers: Liza Thomas

John Gorcsan

Opposed Reviewers: Thierry Gillebert

Jeffrey Smallhorn


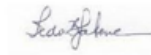



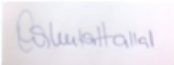

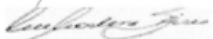
## Copyright Transfer Letter

01/23/2015

## Copyright Transfer Letter

The undersigned author(s) transfer all copyright ownership of the manuscript **Myocardial Performance Index (Tei Index) in Pediatrics: Reference Values in Healthy Individuals and Its Comparison to a Sample of Patients with Dilated Cardiomyopathy** to the American Society of Echocardiography, in the event the work is published. The undersigned warrant(s) that the article is original, does not infringe upon any copyright or other proprietary right of any third party, is not under consideration by another journal, and has not been previously published.

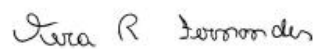

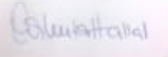

## Author Signatures:

- 1 
- 2 Jera R. Lemos
- 3 
- 4 
- 5 
- 6 
- 7 
- 8 
- 9 

01/23/2015

## Submission declaration

We the undersigned declare that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract and an academic thesis) and that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere including electronically in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the copyright-holder.

- 1 
- 2 
- 3 
- 4 
- 5 
- 6 
- 7 
- 8 
- 9 

# Myocardial Performance Index (Tei Index) in Pediatrics: Reference Values in Healthy Individuals and Its Comparison to a Sample of Patients with Dilated Cardiomyopathy

Authors:

1)Mauricio Laerte Silva, MD,MSc<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Hospital Infantil Joana de Gusmão

Rua Rui Barbosa, 152 - Agronômica, Florianópolis - SC, Brazil. CEP 88025-301

<sup>2</sup>Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina

Campus Universitário, Trindade,Florianópolis,SC,Brazil.CEP 88036-800

Conflict of interest:none

Authorship: conception and design of the study, acquisition of data, analysis and interpretation of data; drafting and revising the article; final approval of the version to be submitted.

e-mail:mauricio.laerte@unisc.br

2)Vera Regina Fernandes,MD,MSc<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hospital Infantil Joana de Gusmão,Florianópolis,SC,Brazil

Rua Rui Barbosa, 152 - Agronômica, Florianópolis - SC, Brazil. CEP 88025-301

Conflict of interest:none

Authorship: conception and design of the study, acquisition of data, analysis and interpretation of data; drafting and revising; final approval of the version to be submitted.

e-mail: verareginafernandes@yahoo.com.br

3)Ieda Biscegli Jatene,MD,PhD<sup>3</sup>

<sup>3</sup>Hospital do Coração, SP,São Paulo

R. Desembargador Eliseu Guilherme, 147-Paraíso,São Paulo,SP,Brazil. CEP 04004-030

Conflict of interest:none

Authorship: the conception and design of the study, analysis and interpretation of data;  
revising the article; final approval of the version to be submitted.

e-mail: mronqui@hcor.com.br

4)Nilzete Liberato Bresolin,MD,MSc<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Hospital Infantil Joana de Gusmão,Florianópolis,SC,Brazil

Rua Rui Barbosa, 152 - Agrônômica, Florianópolis - SC, Brazil. CEP 88025-301

<sup>4</sup>Departamento de Pediatria da Universidade Federal de Santa Catarina

Campus Universitário, Trindade,Florianópolis,SC,Brazil.CEP 88036-800

Conflict of interest:none

Authorship: conception and design of the study; revising the article; final approval of  
the version to be submitted.

e-mail: nilzete.bresolin@hotmail.com

5)Ariel Córdova Rosa<sup>5</sup>

<sup>5</sup>Curso de Medicina da Universidade Federal de Santa Catarina,Florianópolis,SC,Brazil

Campus Universitário, Trindade,Florianópolis,SC,Brazil.CEP 88036-800

Conflict of interest:none

Authorship: acquisition of data, analysis and interpretation of data; drafting  
the article; final approval of the version to be submitted.

e-mail: ariel.cordovarosa@gmail.com

6) Maria Angelica Binotto, MD, PhD<sup>6</sup>

<sup>6</sup>Instituto do Coração (InCor) – Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44. São Paulo, SP, Brazil. CEP 05403-900

Conflict of interest: none

Authorship: the conception and design of the study; revising the article; final approval of the version to be submitted.

e-mail: angelica.binotto@hotmail.com

7) Ana Luisa Curi Hallal, MD, MSc, PhD<sup>7,8</sup>

<sup>7</sup>Secretaria de Estado da Saúde-Florianópolis, SC, Brazil

Rua Esteves Júnior, 160, Centro, Florianópolis, SC, Brazil. CEP 88015-130

<sup>8</sup>Departamento de Saúde Pública, Universidade Federal de Santa

Catarina, Florianópolis, SC, Brazil

Campus Universitário, Trindade, Florianópolis, SC, Brazil. CEP 88036-800

Authorship: the conception and design of the study, analysis and interpretation of data; revising the article; final approval of the version to be submitted.

e-mail: anacuri@gmail.com

8) Mário Sérgio de Azeredo Coutinho, MD, PhD<sup>2,7</sup>

<sup>7</sup>Secretaria de Estado da Saúde-Florianópolis, SC, Brazil

Rua Esteves Júnior, 160, Centro, Florianópolis, SC, Brazil. CEP 88015-130

<sup>2</sup>Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa

Campus Universitário, Trindade, Florianópolis, SC, Brazil. CEP 88036-800

Authorship: conception and design of the study, acquisition of data, analysis and interpretation of data; drafting and revising the article; final approval of the version to be submitted.

e-mail: mcoutinho@gmail.com

9) Maria Marlene de Souza Pires, MD, PhD<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Hospital Infantil Joana de Gusmão, Florianópolis, SC, Brazil

Rua Rui Barbosa, 152 - Agronômica, Florianópolis - SC, Brazil. CEP 88025-301

<sup>4</sup>Departamento de Pediatria da Universidade Federal de Santa

Campus Universitário, Trindade, Florianópolis, SC, Brazil. CEP 88036-800

Authorship: conception and design of the study, analysis and interpretation of data; revising the article; final approval of the version to be submitted.

Corresponding author:

Phone numbers: +55-048-3411-3444 / +55-048- 3251-9000

e-mail: mms\_pires@yahoo.com.br

## 1. INTRODUCTION

Congenital (CHD) and acquired (AHD) heart diseases are a frequent cause of morbidity and mortality in the pediatric population. Congenital heart diseases are the most common of all congenital malformations, with incidence rates ranging between 6-8 per 1000 live births<sup>1</sup>. The prevalence of acquired heart diseases, such as those associated with hypertension and obesity, has quadrupled over the last decades<sup>2</sup>.

Echocardiography is the most important noninvasive imaging method for the diagnosis and follow-up of patients with heart disease<sup>3</sup>. However, many limitations exist in the use of the classic echocardiographic indices to estimate ventricular systolic and diastolic function. Ejection fraction and left ventricular volume measures are prone to errors when the ellipsoid shape of the heart becomes spherical. Age, rhythm, and conduction disorders affect the signals of transmitral flow on Doppler, which is the most widely used technique to study diastolic function. Chuwa Tei conceived and published, in 1995, an index of myocardial performance (known as the Tei index) to evaluate combined systolic and diastolic function. The Tei index proved a reliable method to assess systolic and diastolic performance, with clear advantages over the previously established indices and with prognostic value in several heart disease types<sup>4</sup>.

This index provides information on the different phases of the cardiac cycle. It can be calculated by the estimated total isovolumic time (IT) divided by the ejection time (ET), or by estimating individually the isovolumic contraction time (ICT) and isovolumic relaxation time (IRT), adding these times together and dividing the result by the ejection time<sup>5</sup>.

To apply the MPI in the quantification of ventricular function in children and adolescents with various types of heart disease, comprehensive knowledge of the ranges



of normal values across the different pediatric age groups is essential. The validation of value ranges for local populations is also particularly important to allow for this index to be more widely used in daily clinical practice<sup>6</sup>.

## 2. OBJECTIVES

- 1) To determine LVMPI (left ventricular myocardial performance index) and RVMPI (right ventricular myocardial performance index) values for children and adolescents without heart disease;
- 2) To assess the effect of age on LVMPI and RVMPI;
- 3) To compare the values between individuals without heart disease and those with dilated cardiomyopathy (DCM), and
- 4) To determine intra-and interobserver reproducibility.

## 3. MATERIAL AND METHODS

The present observational, cross-sectional, prospective study was conducted at the *Hospital Infantil Joana de Gusmão (HUG)*, in Santa Catarina State, Brazil.

The study was designed according to the Guidelines and Regulations for Research with Human Subjects (National Health Council Resolution 196/1996)<sup>7,8</sup> and was approved by the Human Research Ethics Committee of the *Universidade Federal de Santa Catarina*.

### 3.1 Participants

#### 3.1.1 Children and Adolescents Without Heart disease

Children and adolescents aged 1 to 203 months without alterations on cardiovascular physical examination participated in the study. Written informed consent was obtained and echocardiographic imaging was done.

#### Exclusion Criteria

Subjects were excluded if they had at least one of the following:

- a) cardiovascular abnormalities on echocardiogram;
- b) malnutrition, obesity, lung disease, oncological diseases, collagen diseases, genetic syndromes, infections, or systemic arterial hypertension.

#### 3.1.2 Children and Adolescents with Dilated Cardiomyopathy

Children and adolescents aged 1 to 203 months diagnosed with DCM participated in the study. The echocardiographic study was performed after written informed consent was obtained. The subjects were included in the study when decreased ( $< 0.28$ ) systolic fractional shortening (SFS) was identified on M-mode echocardiography.

#### Exclusion Criteria

Individuals with  $SFS \geq 0.28$  were excluded.

#### 3.2 Variables

The following variables were analyzed: sex, age, left ventricular myocardial performance index and right ventricular myocardial performance index. The variables were defined and categorized as follows.

**3.2.1 Left Ventricular Myocardial Performance Index:**the sum of the ICT and IRT of the left ventricle divided by the ET of the left ventricle (LVET)<sup>9</sup>. To obtain the sum of ICT and IRT, the LVET was subtracted from the total diastolic time interval for the mitral valve (Figure 1).

**3.2.2 Right Ventricular Myocardial Performance Index:**the sum of the ICT and IRT of the right ventricle divided by the ET of the right ventricle (RVET)<sup>9</sup>. To obtain the sum of ICT and IRT, the RVET was subtracted from the total diastolic time interval for the tricuspid valve (Figure 1).

### 3.3 Echocardiographic Examination

The echocardiographic study was conducted using a commercially available electronic transducer with frequencies of 3.5 or 5.0 MHz (SI450 Sonoline; Siemens, Germany), guided by two-dimensional echocardiography and performed by one of the authors (MLS) according to the Tei recommendations.<sup>4</sup>

The mitral inflow velocity profile was obtained from the apical 4-chamber cut at an insonation angle  $\leq 30^\circ$  with the sample volume of pulsed-wave Doppler placed at the tips of the mitral valve leaflets at diastole. The velocity profile of left ventricular outflow was obtained in the apical long-axis view at an angle of insonation  $\leq 30^\circ$  with the sample volume of pulsed-wave Doppler placed immediately below the aortic valve at systole.

The velocity profile of tricuspid inflow was obtained in the 4-chamber or apical long-axis view at an insonation angle  $\leq 30^\circ$  with the sample volume of pulsed-wave Doppler placed at the tips of the tricuspid valve leaflets at diastole. The velocity profile

of right ventricle outflow was recorded in the parasternal short-axis view at an angle of insonation  $\leq 30^\circ$  with the sample volume of pulsed-wave Doppler placed immediately below the pulmonary valve at systole.

For each of the ventricle inflows and outflows, a minimum of four consecutive beats were recorded. The three beats with the best definition of time intervals of the Doppler signal and ETs were selected, and the final value for each variable was the average of three events.

The flows across the atrioventricular valves and outflows across the semilunar valves were measured simultaneously on the left side and separately on the right side.

The measurements were taken using the vertical cursor, which was moved by a track-ball device. For the right ventricle, the index was obtained by subtracting the RVET from the time interval between the cessation and onset of tricuspid inflow divided by the RVET obtained in the outflow tract. For the left ventricle, the index was obtained by subtracting the LVET from the time interval between the cessation and onset of mitral inflow divided by the LVET, which were obtained simultaneously in the apical 5-chamber view. The sample volume was increased to 15mm in order to enable inflow and outflow tracing with the required quality.

### 3.4 Reproducibility

To test intraobserver reproducibility, the MPI was calculated for 28 randomly selected patients with a minimum interval of 30 days between the first and second measurement, using the same method and the same waves as previously for the calculation of LVMPI and RVMPI.

For interobserver reproducibility, the MPI was measured by a second, independent observer in the same 28 patients by the same method and the same waves used previously for the calculation of LVMPI and RVMPI.

### 3.5 Statistical Analysis

The observations were organized in a database using Excel 7.0® software(Microsoft®);Epi-Info 6.0® software was used in the statistical analysis.

The variables were expressed and analyzed as means, medians, standard deviations, and percentage values.

Statistical comparisons were made for the continuous variables using Student's unpaired *t*-test.

Pearson's coefficient of correlation was used in the intra- and interobserver comparisons and categorized based on the *r*-value as follows<sup>57</sup>:

0.00 – 0.25: no/negligible correlation

0.26 – 0.49: low

0.50 – 0.69: moderate

0.70 – 0.89: high

0.90 – 1.00: very high

Values were considered significantly different for  $p < 0.05$ .

Intra-andinterobserver variability was calculated as the mean percentage measurement error derived from the difference between the two sets of measurements divided by the average of the observations.

The variables TDTMV (total diastolic time interval for the mitral valve) , LVET, LVMPI, TDTTV (total diastolic time interval for the tricuspid valve), TEVD, and RVMPI in the sample of individuals without heart disease were compared between the

children aged 36 months or older and those younger than 36 months to investigate the influence of the age factor on those variables. The age of 36 months was selected for the present study based on literature data reporting that LVMPI is greater in children under three years of age.<sup>39</sup>

## 4. RESULTS

### 4.1 Children and Adolescents Without Heart disease

Among the 121 individuals without heart disease of the initial sample, 64 (52.9%) were male and 57 (47.1%) female, with ages ranging from 3 to 173 months.

The measurements of 119 and 114 individuals were used to calculate LVMPI and RVMPI, respectively. The results are shown in Table 1.

There were no statistically significant differences between males and females for LVMPI ( $p = 0.472$ ) and RVMPI ( $p = 0.816$ ).

#### 4.1.1 Relationship of Myocardial Performance Index with Age

The individuals without heart disease younger than 36 months were compared with those aged 36 months or older for LVMPI and RVMPI (Table 2). No statistical difference was found for LVMPI ( $p = 0.51467$ ) and RVMPI ( $p = 0.62170$ ).

### 4.2 Children with Dilated Cardiomyopathy

Seven children had DCM. Ages ranged from 4 to 97 months, with a mean of  $29 \pm 32$  months and median of 13 months. Of these children, six were female and one was male (Table 3).

#### 4.3 Comparison of Myocardial Performance Index between the Individuals Without Heart Disease and with Dilated Cardiomyopathy

The seven individuals with DCM were compared with the individuals without heart disease for RVMPI and LVMPI. In the group with DCM, LVMPI ( $p = 0.00001$ ) and the RVMPI ( $p = 0.00001$ ) were higher.

#### 4.4 Reproducibility

In the analysis of intraobserver measurements using Pearson's coefficient of correlation, the  $r$ -values were 0.75 ( $p = 0.000005$ ) for LVMPI and 0.60 ( $p = 0.001$ ) for RVMPI. Percentage variability was 2.4% for LVMPI and 0.8% for RVMPI.

For the interobserver measurements, Pearson's coefficient of correlation was  $r = 0.75$  ( $p = 0.00001$ ) for LVMPI and  $r = 0.32$  ( $p = 0.09$ ) for RVMPI. Percentage variability was 17.3% for LVMPI and 15.3% for RVMPI.

### 5. DISCUSSION

The MPI still remains a promising parameter in the global evaluation of cardiac function and can be used in the quantitative assessment of both right and left ventricular performance<sup>4</sup>. However, the normal range of values and the age-related changes in this parameter have not been well established for children, which limits the applicability of MPI measurements in this age group.

In the present study, indices of  $0.37 \pm 0.08$  and  $0.32 \pm 0.06$  were found for LVMPI and RVMPI, respectively. These results are in agreement with those reported by Eidem et al.<sup>9</sup>, who found a MPI of  $0.35 \pm 0.03$  for LV and  $0.32 \pm 0.03$  for RV. The values published by those authors for children older than 3 years of age and adolescents are not statistically different from those published by Tei<sup>10</sup> for adults ( $0.28 \pm 0.04$

for RVMPI and  $0.39 \pm 0.04$  for LVMPI). In children and adolescents, the normal range is  $0.24 \pm 0.04$  to  $0.32 \pm 0.03$  for RVMPI and  $0.32 \pm 0.10$  to  $0.40 \pm 0.09$  for LVMPI<sup>9,11,12,13,14</sup>.

Eto et al.<sup>13</sup> determined the LVMPI of 161 healthy children and found lower values for the children under three years of age ( $0.40 \pm 0.09$ ;  $n = 80$ ) compared to other age ranges ( $0.33 \pm 0.02$ ;  $n = 81$ ). Those authors argue that the difference could be due to changes in ventricular maturity. By contrast, Ishii et al.<sup>11</sup>, in a study with 150 healthy children, found no difference in RVMPI values regardless of age.

In the present study, no significant difference was detected in the 17 children under three years (14% of the sample) in relation to the other age groups. This could be explained by the relatively small number of cases for this age range. Furthermore, there was no statistical difference in MPI between sexes, which is consistent with the literature data.

The children with DCM in the present study showed higher MPI values both for the right and the left ventricle. The RVMPI, markedly abnormal in the children with DCM in this study, reveals that the right chamber is also compromised.

Excellent reproducibility of measurements has been documented in various studies. The differences reported in the variability studies range from 2.5% to 5.4% for intraobserver analysis and from 4.5% to 8% for interobserver evaluation<sup>13,15-21</sup>. In the present study, as reported in the literature<sup>13,15,17-20</sup>, both the correlation and the percentage variability in intraobserver LVMPI and RVMPI measurements were considered excellent.

Regarding interobserver measurements, greater percentage variability was noted than that reported in the literature for both RVMPI and LVMPI. Correlation was considered low for RVMPI and high for LVMPI. These results could be due to



differences in the calibration of the ultrasound equipment, with a wide variation between two cursor positions resulting in significant changes in measurements, with direct impact on the calculation of the indices.

The MPI has a narrow range of values in normal individuals and varies widely across the various degrees of dysfunction. This index is related to morbidity and mortality, easily obtained and reproduced, independent of ventricular geometry, and sufficiently sensitive to detect subclinical dysfunction. Those characteristics make the MPI a particularly suited tool for longitudinal studies, and it can also assist in the evaluation of the course and effectiveness of the instituted therapy<sup>15,22</sup>.

## 6. CONCLUSIONS

Age had no bearing on the values obtained for RVMPI and LVMPI in the sample of children and adolescents without heart disease. The children with dilated cardiomyopathy in the present study had significantly different MPI values in both ventricles from the group of children and adolescents without heart disease.

The intraobserver reproducibility of the MPI is excellent both for LVMPI and RVMPI when analyzed on the basis of percentage variability of error. Intraobserver reproducibility is considered high for LVMPI and moderate for RVMPI based on Pearson's coefficient of correlation.

The interobserver reproducibility of MPI is moderate for both ventricles based on the percentage variability of error. When analyzed by Pearson's correlation coefficient, interobserver reproducibility was found to be high for LVMPI and low for RVMPI.

## REFERENCES

- 1.Sadowski SL. Congenital cardiac disease in the newborn infant: past, present, and future. *Crit Care Nurs Clin North Am* 2009;21(1):37–48.
- 2.Hill KD, Chiswell K, Califf RM, Pearson G, Li JS. Characteristics of pediatric cardiovascular clinical trials registered on ClinicalTrials.gov. *Am Heart J* 2014;167(6):921-9.
- 3.Koestenberger M. Transthoracic echocardiography in children and young adults with congenital heart disease. *Pediatrics* 2012(2012):1-15.
4. Lakoumentas JA, Panou FK, Kotseroglou VK, Aggeli KI, Harbis PK. The Tei Index of Myocardial Performance: Applications in Cardiology. *Hellenic J Cardiol* 2005(46): 52-58.
5. Hernandez-Andrade E, Benavides-Serralde JA, Cruz-Martinez R, Welsh A, Mancilla-Ramirez J. Evaluation of conventional Doppler fetal cardiac function parameters: E/A ratios, outflow tracts, and myocardial performance index. *Fetal Diagn Ther* 2012;32(1-2):22-9.
- 6.Burgess MI, Bright-Thomas RJ, Ray SG. Echocardiographic evaluation of right ventricular function. *Eur J Echocardiogr* 2002;3: 252-62.
- 7.Ministério da Saúde (Ministry of Health). Conselho Nacional de Saúde (Health National Council). Resolução n.196 de 10/10/96. Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos. DOU 1996 Out 16, n.201, seção 1:210;82-8.
8. Ministério da Saúde (Ministry of Health). Conselho Nacional de Saúde (Health National Council). Resolução n.466 de 12/12/2012. Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos. Available in <<http://cep.ufsc.br/files/2010/06/Reso466.pdf>>. Last access:01/22/2015

- 9.Eidem BW, Tei C, O Leary PW, Cetta F, Seward JB. Nongeometric quantitative assessment of right and left ventricular function: myocardial performance index in normal children and patients with Ebstein anomaly. *J Am Soc Echocardiogr* 1998;11(9):849-56.
- 10.Tei C. New non-invasive index for combined systolic and diastolic ventricular function. *J Cardiol* 1995;26:135-6.
- 11.Ishii M, Eto G, Tei C, Tsutsumi T, Hashino K, Sugahara Y et al. Quantitation of the global right ventricular function in children with normal heart and congenital heart disease: a right ventricular myocardial performance index. *Pediatr Cardiol* 2000;21(5):416-21.
- 12.Williams RV, Ritter S, Tani LY, Pagotto LT, Minich LL. Quantitative assessment of ventricular function in children with single ventricles using the Doppler myocardial performance index. *Am J Cardiol* 2000;86(10):1106-10.
- 13.Eto G, Ishii M, Tei C, Tsutsumi T, Akagi T, Hirohisa K. Assessment of global left ventricular function in normal children and in children with dilated cardiomyopathy. *J Am Soc Echocardiogr* 1999; 12 (12):1058-64.
- 14.Sato T, Harada K, Tamura M, Watanabe A, Ishii M, Takada G. Cardiorespiratory exercise capacity and its relation to a new Doppler index in children previously treated with anthracycline. *J Am Soc Echocardiogr* 2001;14 (4):256-63.
- 15.Tei C, Dujardin KS, Hodge DO, Bailey KR, McGoon MD, Tajik AJ et al. Doppler echocardiographic index for assessment of global right ventricular function. *J Am Soc Echocardiogr* 1996;9(6):838-47.
- 16.Tei C, Dujardin KS, Hodge DO, Kyle RA, Tajik AJ, Seward JB. Doppler index combining systolic and diastolic myocardial performance: clinical value in cardiac amyloidosis. *JACC* 1996;28(3):658-64.

- 17.Eidem BW, Sapp BG, Suarez CR, Cetta F. Usefulness of the myocardial performance index for early detection of anthracycline induced cardiotoxicity in children. *Am J Cardiol* 2001; 87(9):1120-2.
- 18.Harada K, Tamura M, Toyono M, Yasuoka K. Effect of dobutamine on a Doppler echocardiographic index of combined systolic and diastolic performance. *Pediatr Cardiol* 2002; 23:613-7.
- 19.Bruch C, Schmermund A, Dagues N, Katz M, Bartel T, Erbel R. Severe aortic valve stenosis with preserved and reduced systolic left ventricular function: diagnostic usefulness of the Tei index. *J Am Soc Echocardiogr* 2002; 15(9): 869-76.
- 20.Bruch C, Schmermund A, Marin D, Katz M, Bartel T, Schaar J et al. Tei-Index in patients with mild-to-moderate congestive heart failure. *Eur Heart J* 2000;22:1888-95.
- 21.Parthenakis FI, Kanakaraki MK, Kanoupakis EM, Skolidis EI, Diakakis GF, Filippou OK et al. Value of Doppler index combining systolic and diastolic myocardial performance in predicting cardiopulmonary exercise capacity in patients with congestive heart failure: effects of dobutamine. *Chest* 2002;121(6):1935-41.
- 22.Peltier M, Slama M, Garbi S, Enriquez-Sarano ML, Goissen T, Tribouilloy C et al. Prognostic value of Doppler-derived myocardial performance index in patients with left ventricular systolic dysfunction. *Am J Cardiol* 2002;90(11):1261-2.
- 23.Dujardin KS, Tei C, Yeo TC, Hodge DO, Rossi A, Seward JB. Prognostic value of a Doppler index combining systolic and diastolic performance in idiopathic-dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1998;82:1071-6.

Figure

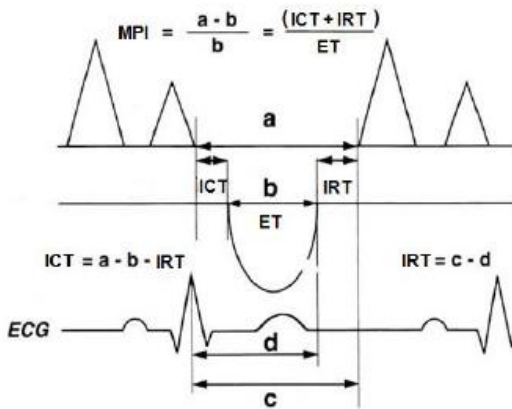


Figure 1. Diagram illustrating the measurement of the myocardial performance index (MPI). Adapted from Dujardin et al.<sup>23</sup> Source: Dujardin. Am J Cardiol. 1998;82(9):1071-76.

Table

Table 1. Range, mean, and median of left ventricular and right ventricular myocardial performance indices for the group of children and adolescents without heart disease.

Variable	Number	Variation	Mean	Median
LVMPI <sup>1</sup>	119	0.18 – 0.64	0.37 ± 0.08	0.37
RVMPI <sup>2</sup>	114	0.17-0.53	0.32 ± 0.06	0.32

Source: Pediatric cardiology service, *Hospital Infantil Joana de Gusmão*.

<sup>1</sup>LVMPI: left ventricular myocardial performance index; <sup>2</sup>RVMPI: right ventricular myocardial performance index

Table 2. Comparison of the LVMPI and RVMPI means of children and adolescents without heart disease, younger than 36 months vs. 36 months and older.

Age	LVMPI <sup>1</sup>	RVMPI <sup>2</sup>
< 36 months (n = 17)	0.38 ± 0.05	0.31 ± 0.05
≥ 36 months (n = 102)	0.37 ± 0.08	0.32 ± 0.07
p-value	0.515467	0.62170

Source: Pediatric cardiology service, *Hospital Infantil Joana de Gusmão*.

<sup>1</sup>LVMPI: left ventricular myocardial performance index; <sup>2</sup>RVMPI: right ventricular myocardial performance index

Table 3. Age, sex, left ventricular myocardial performance index (LVMPI) and right ventricular myocardial performance index (RVMPI) of the children with DCM.

Age (months)	Sex	LVMPI <sup>1</sup>	RVMPI <sup>2</sup>
--------------	-----	--------------------	--------------------

4	Female	1.51	1.25
6	Female	2.00	1.59
10	Female	0.88	0.68
13	Female	0.67	0.48
41	Male	1.06	1.36
41	Female	0.82	0.70
97	Female	1.18	1.31

Source: Pediatric cardiology service, *Hospital Infantil Joana de Gusmão*

<sup>1</sup>LVMPI: left ventricular myocardial performance index; <sup>2</sup>RVMPI: right ventricular myocardial performance index